FLORA

ODER ALLGEMEINE BOTANISCHE ZEITUNG

HERAUSGEGEBEN VON

DR. O. RENNER

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT JENA

NEUE FOLGE. 35. BAND

DER GANZEN REIHE 135. BAND

ERSTES HEFT

MIT 25 ABBILDUNGEN IM TEXT UND 2 TAFELN

Nachlaß von Prof. N. Malta

JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1941

Flora. N. F. Band 35	Heft 1	S. 1—100, Jena, 15. 4. 1941

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
LÜCK, RENATE, Zur Keimung der heimischen Pirola-Arten. Mit 1 Abbildung im Text	1— 5
ORSÓS, OTTO †, Die Gewebeentwicklung bei der Kohlrabiknolle. Mit 7 Abbildungen im Text und 2 Tafeln	6— 20
DRAWERT, HORST, Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. III. Die Aufnahme saurer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Mit 4 Abbildungen im Text	21— 64
FLOREN, GERDA, Untersuchungen über Blütenfarbmuster und Blütenfärbungen. Mit 13 Abbildungen im Text	65—100

Die „Flora" erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften. Je 4 Hefte bilden einen Band, dessen Preis im laufenden Jahre 40 RM nicht überschreiten wird.

Manuskripte in deutscher Sprache, völlig druckfertig auf einseitig beschriebenen Blättern in Maschinenschrift, sind zu schicken an Prof. Dr. O. Renner, Jena, Botanisches Institut.

Verfassernamen sind gerade, lateinische Namen gewellt zu unterstreichen. Vorlagen zu Textabbildungen sollen nicht in den Text eingefügt werden, sondern sind gesondert beizugeben; die Texte zu den Abbildungen sind auf besonderem Blatt zusammenzustellen. Als Muster für die Art der Literaturzitierung gelten die Literaturlisten der letzten Bände der Flora.

Für den Druckbogen wird, bis zu der Höchstzahl von drei Bogen, ein Unkostenbeitrag von 30 RM gewährt, jedoch nicht bei Dissertationen. 40 Sonderabdrucke stehen unentgeltlich zur Verfügung, weitere Abzüge, höchstens 160, werden zum Selbstkostenpreis berechnet.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Hugo Glück †

Biologische und morphologische Untersuchungen über Wasser- und Stumpfgewächse

Vier Bände / RM 116.—*

Bd. I: **Die Lebensgeschichte der europäischen Alismaceen.** Mit 25 Abbild. im Text und 7 lithogr. Doppeltafeln. XXIV, 312 S. gr. 8° 1905 RM 20.—*

Bd. II: **Untersuchungen über die mitteleuropäischen Utricularia-Arten, über die Turionenbildung der Utricularia-Arten, über die Turionenbildung bei Wasserpflanzen, sowie über Ceratophyllum.** Mit 28 Abbild. im Text und 6 lithogr. Doppeltafeln. XVII, 255 S. gr. 8° 1906 RM 18.—*

Bd. III: **Die Uferflora.** Mit 105 Abbild. im Text und 8 lithogr. Doppeltafeln. XXXIV, 644 S. gr. 8° 1911 RM 33.—*

Bd. IV: **Untergetauchte und Schwimmblattflora.** Mit 94 Abbild. im Text und 8 lithogr. Doppeltafeln. VII, 746 S. gr. 8° 1924 RM 45.—*

Blatt- und blütenmorphologische Studien

Eine morphologische Untersuchung über die Stipulargebilde, über die Intravaginalpapillen, über die Blattscheide und über die Bewertung der Blütenblattgebilde. Mit 284 Textfiguren und 7 lithogr. Tafeln. XXIII, 696 S. gr. 8° 1919 RM 32.—*

Pteridophyten und Phanerogamen des Süßwassers

Unter gleichzeitiger Berücksichtigung der wichtigsten Wasser- und Sumpfgewächse des ganzen Kontinents von Europa. Bearbeitet von Prof. **Hugo Glück,** Heidelberg. Mit 258 Abbild. im Text. („Die Süßwasserflora Mitteleuropas." Hrsg. von Prof. Dr. A. Pascher, Prag. Heft 15.) XX, 486 S. Taschenformat. 1936 RM 18.—, geb. 19.50

* *bis auf Widerruf abzügl. 10%*

Nachlass von Prof. N. Malta
588

Zur Keimung der heimischen Pi...

Von **Renate Lück.**

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Königsberg.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Unsere Kenntnis über Keimung und Jugendentwicklung der mykotrophen Piroloideen weist wesentliche Lücken auf. Trotz der großen Zahl der gebildeten Samen sind in der Natur nur durch IRMISCH und VELENOVSKY Keimpflanzen gefunden worden, bei denen es sich aber um bereits 1—3jährige Pflänzchen handelte. Die Theorie der Pirolaceenkeimung von VELENOVSKY soll hier wegen seines zu lückenhaften Materials übergangen werden. Jüngste Keimpflanzen sind uns erst durch CHRISTOPH bekannt geworden, der bei *Pirola rotundifolia* eine Keimung bis zu 75% erzielte. Die Keimlinge, die im günstigsten Falle die Testa gesprengt hatten und sich als walzenförmige Gebilde mit der Anlage einer Wurzelhaube darstellten, gingen spätestens auf diesem Stadium ein; nach CHRISTOPHS Angaben aus äußeren Gründen: durch Zugabe ungeeigneter Nährlösungen oder durch Fraß von Würmern.

Die sehr kleinen Samen weisen mit ihren reduzierten, ungegliederten Embryonen auf Formenkreise hin, deren Entwicklung an das symbiontische Zusammenleben mit Pilzen gebunden ist. Besonders seit FRANCKE der Nachweis der mykotrophen Entwicklung von *Monotropa*-Keimlingen gelungen ist, liegt die Annahme nahe, auch für die Piroloideen einem Pilzsymbionten eine wesentliche Rolle bei ihrer Jugendentwicklung zuzuschreiben. Ich habe mich durch mehrere Jahre hindurch bemüht, den Wurzelpilz verschiedener *Pirola*-Arten zu isolieren, dann zu kultivieren und Infektionen von Embryonen durchzuführen. Ein entscheidender Erfolg wurde nicht erzielt, da die einwandfreie Isolierung des spezifischen Symbionten nicht gelang, was an anderem Ort beschrieben worden ist (Schrift. d. physik.ökon. Gesellsch., Königsberg, **71**, 1940). Jedoch führten Keimversuche ohne sichtbare Mitwirkung von Pilzen zu gewissen Erfolgen. Dabei wurden Samen mit Standorterde gemischt und in kleinen Gazebeuteln am natürlichen Standort auf der Kurischen Nehrung und im botanischen Garten vergraben. Bei Keimversuchen im Gewächshaus wurde mit Regenwasser, wäßrigen Bodenauszügen und Bodenauszug-Peptonlösungen (Witte-Pepton 0,25 und

0,125%) gegossen. Daneben wurden auch Laboratoriumsversuche auf sterilem Boden durchgeführt.

In zahlreichen Fällen gelang es, bei allen untersuchten Arten (*Pirola rotundifolia*, *minor*, *chlorantha*, *secunda*, *uniflora* und *Chimophila umbellata*) eine Keimung z. T. mit hohem Prozentsatz zu erzielen (Tabelle 1 u. 2). Jedoch trat in allen Versuchen ein Entwicklungsstillstand auf noch wenig differenzierten Stadien der Keimlinge ein, ohne daß die jungen Pflänzchen zugrunde gingen. Die Beobachtungen von CHRISTOPH über die ersten Vorgänge bei der Keimung von *Pirola rotundifolia* können bestätigt und an anderen Arten erweitert werden.

Tabelle 1. Keimversuch Kurische Nehrung: X. 1938—V. u. VI. 1939.

Keimung in %	chlor.	minor	rotund.	sec.	unifl.	Ch. umb.
nach 7 Monaten	0	0	0	0	0	0
nach 8 Monaten	4	22	38	10	10	14
	14	34	72	—	—	—

Tabelle 2. Keimversuch Bot. Garten:

Keimung in %	chlor.	minor	rotund.	sec.	unifl.
nach 11 Monaten	86	84	92	6	8
	69	—	90	9	—

Bei *P. rotundifolia* und *chlorantha* durchbricht der ungegliederte Embryo nach den ersten Zellteilungen das einschichtige Endosperm, wobei die Kutikula, die das Nährgewebe umgibt, gesprengt wird. Es schiebt sich ein kleiner Gewebekegel hervor mit auffallend großen Epidermiszellen (Fig. 1a). Nun werden weitere Ringe von Epidermiszellen differenziert, der Keimling streckt sich walzenförmig und reißt die Testa auf. Die zentral gelegenen Zellen verlängern sich und bilden wahrscheinlich die Anlage des Leitgewebes. Im günstigsten Fall wird am Wurzelpol eine Wurzelhaube angelegt. Das Aleuron und Fett führende Endosperm ist auf diesem Stadium völlig aufgebraucht, die großen, ehemals an Reservestoffen reichen Zellen am chalazalen Pol des Embryos weitgehend entleert. Im „Leitgewebe" erscheinen kleine Stärkekörner. Die weitest entwickelten Stadien traten in einigen Versuchen überhaupt nicht, in anderen nur zu etwa 5% auf.

Die Keimversuche mit *P. minor* wurden erst später begonnen und führten bisher nur zum Kegelstadium. In ihm stimmt *P. minor* völlig mit *P. rotundifolia* und *P. chlorantha* überein, was für ihre systematische Zuordnung von Bedeutung ist.

Die Keimlinge von *P. secunda* gedeihen rasch über das erste kleine Keimspitzchen hinaus zu dicken, kegelförmigen Gebilden, die auf diesem Stadium die Testa meist gesprengt haben. Die ältesten Epidermiszellen fallen durch ihre Zell- und Zellkerngröße auf. Die zentral gelegenen Zellen haben dann eine mäßige Längsstreckung erfahren, die Nährstoffe des Embryos sind weitgehend aufgebraucht. Ein Teil der Keimlinge zeigt eine gewisse Asymmetrie, die durch eine leichte, seitliche Einbuchtung zustande kommt (Fig. 1 b). Die Anlage eines neuen Organs konnte darin nicht festgestellt werden. Walzenstadien wurden ebensowenig wie die Bildung einer Wurzelhaube beobachtet.

Die embryonale Entwicklung von *Chimophila umbellata* zeigt Beziehungen zu *P. secunda*. Walzenstadien traten bisher nicht auf. Eine Asymmetrie des Baus wurde nicht festgestellt.

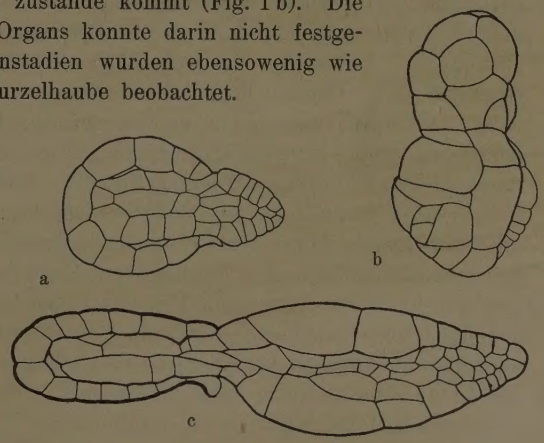


Fig. 1. a *P. rotundifolia*, junges Kegelstadium. Vergr. ca. 100 ×. b *P. secunda*, asymmetrischer Keimling. Vergr. ca. 100 ×. c *P. uniflora*, Walzenstadium. Vergr. ca. 100 ×.

Bei *P. uniflora* (Fig. 1 c) wachsen die Kegelstadien schnell zu walzenförmigen Gebilden heran, die sich aber stark strecken und ein zartes, fadenförmiges Aussehen erhalten. Obwohl sie sich also der Größe nach weiter entwickeln als die anderen *Pirola*-Arten, findet eine Differenzierung der Wurzelhaube nicht oder noch nicht statt.

Bis auf eine Ausnahme blieben alle Keimlinge unverpilzt. Nur einmal waren bei einem langgestreckten Keimling von *P. uniflora* zwei Epidermiszellen verpilzt, sie blieben dabei turgeszent, und ihr Zellkern behielt die normale Größe.

Über die Entwicklungsbedingungen und den zeitlichen Verlauf der Keimung konnte folgendes beobachtet werden. Bei Aussaat im Spätherbst am natürlichen Standort keimen die Samen erst nach 8 Monaten. Im Gewächshaus bei Vermeidung der normalen tiefen Wintertemperaturen kann eine Verkürzung der Ruheperiode auf 3 Monate erreicht werden (*P. rotundifolia*). Dabei erwiesen sich Temperaturen um 15° C als die günstigsten; höhere Temperaturen (20° C) förderten

nicht, niedere (8° C) hemmten. Treibmittel wie Natriumrhodanid oder Äthylenchlorhydrin führen in verschiedensten Konzentrationen zu keiner weiteren Verkürzung. Nach meinen Beobachtungen ist die lange Ruheperiode wahrscheinlich durch zwei Ursachen bedingt. Die schwer benetzbare Testa, noch stärker aber die das Endosperm umgebende Kutikula, erschweren die Quellung. Diese Widerstände konnten z. T. durch höhere Temperaturen, die die Quellung fördern, und durch Abpräparieren der Testa und Anritzen der Kutikula überwunden werden. Die Keimung erfolgte trotzdem erst nach 3 Monaten. Fördernd wirkt ein einmonatiges Auswaschen der Samen in langsam strömender Flüssigkeit (Regenwasser). Danach liegt es nahe anzunehmen, daß die Zwangsruhe der Samen neben der erschwerten Quellung durch keimungshemmende Stoffe verursacht wird, die entweder schwer löslich oder durch die Kutikula nur schwer auswaschbar sind.

Wurde die Ruheperiode überwunden, keimten die Samen z. T. mit sehr hohen Prozenten in Standorterde am natürlichen wie am künstlichen Standort. Ein Begießen mit Bodenauszügen wirkt günstig. Peptonlösungen im Verein mit Bodenauszügen förderten nicht, sondern hemmten sogar, vielleicht durch die Überhandnahme von Bakterien. CHRISTOPHS Angaben kann ich hierin also nicht bestätigen. Die aus *Pirola*-Wurzeln isolierten Pilze förderten die Keimung nicht. Die Ergebnisse mit Hefeautolysaten und verschiedenen Vitaminlösungen blieben unklar, jedenfalls konnte auch auf diesem Wege eine eindeutige Beschleunigung nicht herbeigeführt werden.

Dem auf solche Weise erreichten ersten Keimungsstadium mit dem kegelförmigen Embryo folgt unter natürlichen Verhältnissen erneut ein Wachstumsstillstand, der mehrere Monate dauert und sich über den 2. Lebenswinter in den 2. Sommer erstreckt. Dabei sterben die Embryonen keineswegs ab. An großem Samenmaterial mit 84% Keimlingen wurde z. B. festgestellt, daß im Herbst ausgesetztes Kegelstadiummaterial nach dem im Freien verbrachten Winter im April noch etwa 70% lebende Keimlinge enthielt. Auch während des 2. Sommers konnte keine Weiterentwicklung beobachtet werden. Die walzenförmigen Stadien sterben zum größten Teil nun bald ab, wahrscheinlich aus Nährstoffmangel, denn sie enthalten keine sichtbaren Reservestoffe mehr.

Ich habe mit verschiedensten Mitteln versucht, diese zweite Ruheperiode abzukürzen oder überhaupt zu übergehen. Es wurden verschiedene vitaminhaltige Lösungen, vor allem Hefeextrakte, benützt. Erfolge, die auftraten, hatten aber immer nur zufälligen Charakter und waren nicht mit Sicherheit reproduzierbar, so daß die Ursache unklar

blieb. So wurden im November 1937 Samen von *P. chlorantha* ausgesät, im November 1938 82% Keimlinge, Kegelstadien, festgestellt. Darauf erfolgte Hefeextraktgabe. Die winterlos weiterkultivierten Keimlinge zeigten im Mai 1939 56% Kegelstadien, 14% Walzenstadien und 4% Zwischenstadien. Nach erneuter Gabe von Hefeextrakt waren im Juli 1939 22% Kegelstadien, 36% Walzenstadien und 10% Zwischenstadien vorhanden. Hier hatte Hefeextrakt im Vergleich zu Kontrollen ganz entscheidend gefördert. Jedenfalls zeigt dieser Versuch, daß die Kegelstadien viele Monate lang am Leben bleiben können, was für die Walzenstadien nicht in dem Maße gilt.

Es liegt nahe anzunehmen, daß unter natürlichen Bedingungen ein Mykorrhizapilz den entscheidenden Impuls zur Weiterentwicklung erteilt. Alle in dieser Richtung angestellten Versuche mit aus *Pirola*-Wurzeln isolierten Pilzen blieben aber ohne Erfolg. Natürlich ist es möglich, daß bei *Pirola* eine Art doppelter Symbiose vorliegt, daß die Jugendstadien einen anderen Symbionten brauchen als die erwachsenen Pflanzen. Jedoch muß darauf hingewiesen werden, daß auch in den Keimungsversuchen im natürlichen Substrat inmitten von *Pirola*-Pflanzen die jungen Pflänzchen eine schwer zu überwindende Klippe haben. Vielleicht findet die Infektion nur unter selten gegebenen Bedingungen statt. Was aus den Walzenstadien weiter wird, kann zur Zeit noch nicht beurteilt werden. In der Natur verläuft die Entwicklung bis zu dieser noch so wenig differenzierten Stufe in einem oder in 2 Jahren; während des 2. Sommers geht ein großer Teil der Keimlinge zugrunde. So ist es wohl auch zu erklären, daß *Pirola*-Keimlinge nur äußerst selten zu finden sind.

Literatur.

Christoph, H., Beihefte z. Bot. Zentralbl., I. Abt. **38,** 115 (1921). — Francke, H. L., Flora, N. F. **25,** 1 (1934). — Irmisch, Th., Flora **13,** 625 (1855) und Flora **17,** 497 (1859). — Velenovsky, J., Rozpravy, Trida II Cislo **39** (1892) und Bull. internat. de l'Acad. des sciences de Bohême 1905.

Die Gewebeentwicklung bei der Kohlrabiknolle[1].

Von Dr. **Otto Orsós** †.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität in Budapest, Ungarn.)

Mit 7 Abbildungen im Text und 2 Tafeln.

Einleitung.

Wir wissen aus den Versuchen VÖCHTINGS, daß die sich in Entwicklung befindende Knolle des Kohlrabi (*Brassica oleracea L. var. gongylodes L.*), eine sehr große Regenerationsfähigkeit besitzt. So heilt z. B. bei einer entzweigeschnittenen Knolle nicht nur die Wunde, sondern unter der verkorkenden Fläche kann sich eine mächtige Gewebemasse bilden, und diese kann unter günstigen Verhältnissen bedeutend größer sein als der entfernte Teil.

Deshalb entschloß ich mich, für meine Gewebekulturen und Organisationsuntersuchungen die Kohlrabiknolle als Versuchsobjekt zu wählen. Im Laufe meiner Studien tauchte dann die Frage auf, was die Ursache dieser Regenerationsfähigkeit sein kann, die bei den höheren Pflanzen fast beispiellos ist. Die Lösung dieser Frage ist besonders deshalb wichtig, weil sie eventuell die Möglichkeit bietet, auch bei anderen Pflanzen ein ähnliches, stark regenerierendes und mächtiges Gewebe zu erziehen. Bevor ich aber die experimentellen Untersuchungen beginnen konnte, war es notwendig, die Entwicklung der Gewebe, die die Knollen aufbauen, eingehend kennenzulernen. Da sich im Schrifttum diesbezügliche Untersuchungen nicht fanden (bisher wurde nur die Anatomie bearbeitet: WEIS, 1883, LUND und KJAERSKOU, 1886, VÖCHTING, 1908), studierte ich die Entstehung der Gewebe der Knolle. Des Vergleiches halber untersuchte ich auch die Ausbildung des unter der Knolle befindlichen Stengelteils.

1) Teilweise vorgetragen in der Sitzung der Botanischen Abteilung der Kgl. Ungarischen Naturwissenschaftlichen Gesellschaft am 10. Jan. 1939.

Das Manuskript lag in ungarischer Sprache vollkommen druckfertig vor, als der außerordentlich begabte junge Verfasser plötzlich dahinschied. Die Übersetzung wurde von a. o. Prof. Oberdirektor Dr. B. AUGUSZTIN, die Herausgabe vom Institutsvorstande, Prof. A. PAÀL, besorgt.

Das verwendete Material und die Methodik der Untersuchung.

Zu meiner Untersuchung verwandte ich die „blaue englische" Kohlrabisorte. Die Samen wurden von März bis September in Intervallen von 2—4 Wochen ausgesät. So konnte ich die einzelnen Entwicklungsstadien an Exemplaren, die bei verschiedenen Witterungsverhältnissen wuchsen, vergleichen. Dies ist deshalb wichtig, weil, wie bekannt, die Entwicklung der Knolle von äußeren Verhältnissen sehr beeinflußt wird.

Zur Beschreibung des Entwicklungsganges habe ich folgende Stadien untersucht: 1. Den ruhenden Samen. 2. Den keimenden Samen. 3.—6. Die Keimpflanze mit einem Hypokotyl von der Länge von 3, 8, 12, 20 mm. 7.—19. Pflanzen mit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 und 13 Laubblättern. 20.—23. Pflanze mit Knolle von 36, 50, 70 und 140 mm Durchmesser. Zur Charakterisierung des Entwicklungsstadiums mittels der Blattzahl muß ich bemerken, daß die angegebene Blattzahl bei den Pflanzen mit 1—9 Laubblättern die Zahl der vollkommen ausgebreiteten Spreiten bedeutet; bei den Stadien mit 10—13 Blättern habe ich schon jedes Blatt, welches länger als 30 mm war, in Betracht gezogen.

Von jedem Stadium habe ich wenigstens zwei Pflanzen, von vielen auch vier in Quer- und Längsschnittserien aufgearbeitet. Zum Fixieren benützte ich die Lösung Juel II. Ich versuchte auch die Mischung von Bouin, doch hat sich diese nicht bewährt. Die mit der üblichen Paraffin-Methode verfertigten Schnitte wurden der Doppelfärbung mit Fuchsin-Pikrinsäure nach Zimmermann und mit Hämatoxylin nach Ehrlich bzw. Delafield unterworfen. Der Gang des Färbens war folgender: Nach dem Herauslösen des Paraffins wurden die Schnitte durch eine Alkoholserie hindurch sukzessive durchwässert, dann aus destilliertem Wasser auf 10—12 Minuten in eine gesättigte wässerige Fuchsinlösung übertragen. Nach der Fuchsinfärbung kamen die Präparate in eine Pikrinsäurelösung, die durch Mischen von einem Teil gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung und zwei Teilen destillierten Wassers hergestellt wurde. Nach der Behandlung mit Pikrinsäure wurde so lange mit 96%igem Alkohol gewaschen, bis keine Farbe mehr austrat. Nach der Differenzierung wurden die Schnitte aus 70%igem Alkohol nach der üblichen Methode mit Hämatoxylin gefärbt. Die Dicke der Schnitte war 4—25 μ.

I. Die Veränderungen am Vegetationskegel.

Der Vegetationskegel geht — außer den mit dem Plastochron verbundenen Änderungen — durch drei Stadien hindurch. Im ersten Stadium, vom embryonalen Zustande bis zum Beginn der Entwicklung der Knolle, zeigt der Aufbau des Vegetationskegels das gewöhnliche Bild (Fig. 1). Im zweiten Stadium, während der Entwicklung der Knolle, verbreitert sich der Vegetationskegel mehr und mehr. Im mittleren

Teil des Vegetationskegels, im zentralen Teile des Corpus[1]), erhöht sich die Zahl der Zellen in großem Maß (Fig. 2). Die daraus entstehenden Zellen des primären Meristems verbreitern sich und teilen sich nicht nur durch Quer-, sondern auch durch Längswände (Fig. 3). Gegen das Ende der Knollenentwicklung, wenn der Vegetationskegel sich langsam verschmälert und dadurch in das dritte Stadium, in die Bildung des Gipfels für die florale Region, übergeht, wird die Teilung der Zellen im zentralen Teile des Corpus langsamer, es entstehen immer weniger und weniger Zellen; auch die Zellen des primären Meristems verbreitern sich nicht mehr, es hört auch die Teilung mittels Längswänden auf, und zuletzt bekommt der Vegetationskegel langsam wieder den Aufbau, welcher der Bildung der Knolle vorangeht (Fig. 4).

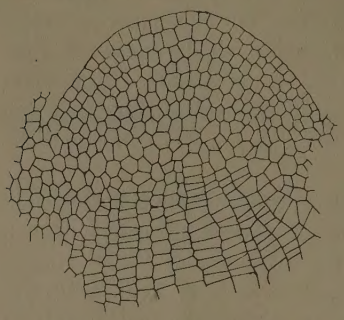


Fig. 1. Der Vegetationskegel einer Pflanze mit zwei Laubblättern.

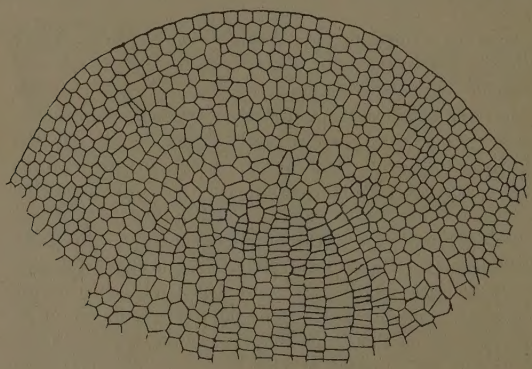


Fig. 2. Der Vegetationskegel am Anfange der Knollenentwicklung.

Im peripheren Teile des Corpus zeigen sich auch Veränderungen während dieser drei Stadien, aber nicht so auffällig wie im zentralen Teil. Die periphere Schichte des Corpus besteht im Embryo aus 4—5 Zellreihen und vermehrt sich dann nach dem Beginn der Ent-

1) Zwischen peripheren und zentralen Teilen des Corpus ist keine scharfe Grenze zu ziehen, um so weniger, als sich die Abkömmlinge von einer bestimmten, an der Grenze gelegenen Zelle im Laufe der Entwicklung teilweise dem peripheren und teilweise dem zentralen Teile anschließen. Über die Anzahl der Schichten der Tunica spricht sich der Verf. in der Arbeit nicht aus, und die Zeichnungen erlauben kein sicheres Urteil darüber. (Bemerkung des Herausgebers.)

wicklung langsam auf 10 Zellreihen. Hand in Hand damit vermindert sich die Dimension der Zellen, die Färbbarkeit ihres Plasmas erhöht

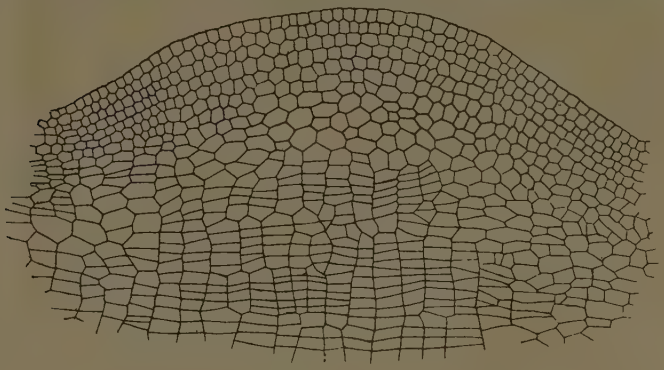


Fig. 3. Der Vegetationskegel im Laufe der Knollenentwicklung.

sich hingegen. Bei der Bildung der Knolle nimmt die Zahl der peripherischen Zellenreihen des Corpus ab, die höchst gelegenen auf 4, die tieferen auf 8[1]). Diese Zahl bleibt dann bis zur Ausbildung der floralen Region ständig. Dann sondert sich aber das Corpus nicht mehr so entschieden in einen zentralen und einen peripheren Teil, weil die Zellen der peripheren Schichte mit der Verminderung der Zahl der Zellreihen sich vergrößern und die Färbbarkeit ihres Plasmas schwächer wird.

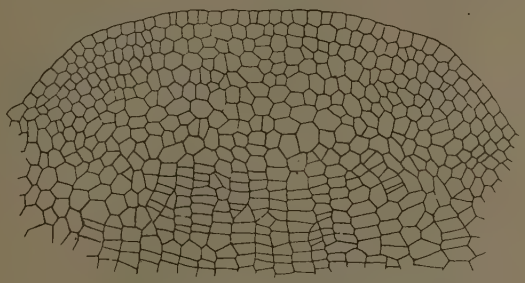


Fig. 4. Anfangszustand des Vegetationskegels der floralen Region.

Im allgemeinen kann man beobachten, daß das Plasma der meristematischen Zellen stärker färbbar ist als das Plasma der Zellen im Dauerzustande. Das Plasma derjenigen meristematischen Zellen, die

1) Dies ist wohl so zu verstehen, daß aus denjenigen Zellreihen des peripheren Teiles, die zum Aufbau der Knolle nicht verbraucht worden sind, inzwischen an der Spitze vier und etwas weiter basalwärts acht Zellreihen entstanden sind. (Bemerkung des Herausgebers.)

sich gerade teilen, ist noch besser färbbar als das der meristematischen Zellen in der Interphase. Diese stärkere Färbbarkeit äußert sich nicht nur bei der Anwendung von Plasmafarben, sondern auch bei der Kernfärbung. So kann dann die stärkere Färbbarkeit als Anzeiger des meristematischen Zustandes dienen; die verschiedene Färbbarkeit der einzelnen Teile des Meristems kann sogar die Verschiedenheit der Intensität der Teilung verraten.

Zwischen der Veränderung des Aufbaues der Vegetationsspitze und der Blattbildung besteht ein Zusammenhang. Mit der Vermehrung der peripheren Zellreihen des Corpus ist die Verkürzung des Plastochrons verbunden, d. h. der Zeit, die bis zum Erscheinen je eines Blatthöckers verfließt. Mit der Verminderung der Zellreihen verlängert sich hingegen diese Zeit. Die Vermehrung und Verminderung der Zellreihen hängt nämlich von der Intensität der Zellteilung ab, und mit dieser ist die Ausbildung der Blatthöcker verbunden.

Vor der Knollenbildung entwickelt sich am basalen Teile der Blatthöcker rechts und links je ein keulenförmiges trichomartiges Gebilde (Taf. I, Fig. 1). Dieses geht aber bei der weiteren Entwicklung der Blattanlage zugrunde.

II. Die Ausbildung des Leitungsgewebesystems.

Im Stengel der Kohlrabipflanze bilden sich im ersten Jahre zweierlei Leitungssysteme. Das eine besteht aus kollateralen offenen Bündeln, es bildet ein Netz im äußeren Teile der Knolle, und im Stengelteile unterhalb der Knolle setzt es sich in einen zusammenhängenden Holz- und Siebring fort. Es entsteht indirekt aus den peripheren Schichten des Corpus des Vegetationskegels auf die Weise, daß zuerst ein sogenannter primärer Meristemmantel (benannt nach Helm) entsteht; aus diesem differenzieren sich Prokambiumbündel und aus diesen weiterhin das periphere Bündelnetz der Knolle, sowie auch die Holz- und Siebteile unterhalb der Knolle.

Das andere Leitgewebesystem besteht aus leptozentrischen Bündeln. Es bildet ein kompliziertes Netzwerk im Markgewebe der Knolle und entsteht indirekt aus dem zentralen Teil des Corpus, indem das Urmeristem in Primärmeristem übergeht und in diesem sich das Prokambium ausdifferenziert.

Diese zwei verschieden aufgebauten und voneinander unabhängig entstehenden Leitgewebesysteme verbinden sich erst später miteinander, und zwar mit Hilfe von leptozentrischen Bündeln.

1. Die Ausbildung des zusammenhängenden Holz- und Siebteiles im Stengelabschnitte unterhalb des peripheren Netzwerkes der Knolle.

Bezüglich der Ausbildung des Leitgewebesystems der Kohlrabipflanze konnte ich die von der üblichen abweichende und unter dem Gesichtspunkt der allgemeinen Entwicklungslehre interessante Tatsache feststellen, daß hier aus dem Prokambiumnetzwerk, welches sich aus dem Primärmeristemmantel herausdifferenziert, nur ein Teil sich sofort in kollaterale offene Bündel umwandelt. Hingegen bilden sich aus dem anderen Teile des Prokambiumnetzes primär nur aus Siebelementen aufgebaute Bündel; die Holzelemente entstehen erst später, nach Beginn des sekundären Dickenwachstums.

Der Gang der Entwicklung ist ausführlich folgender: Im ruhenden Samen sind am Vegetationskegel des Embryos noch keine Blattanlagen vorhanden, und im Zusammenhange damit fehlen auch die Anlagen der Leitgewebe. Hingegen findet man im Hypokotyl des ruhenden Embryos sogar zweierlei Gewebe, aus welchen sich Leitgewebe entwickeln wird. Das eine bildet im unteren Teile des Hypokotyls einen einzigen, aus nicht übermäßig gestreckten Zeilen bestehenden Strang, der sich nach oben zu in zwei Stränge spaltet, die in die Kotyledonen ausbiegen (Fig. 5 u. 6). Zwischen den beiden sich auseinander biegenden Strängen findet man embryonales Markgewebe; an der Grenze zwischen diesem Gewebe und der embryonalen Rinde fällt eine Schicht auf, die aus ein bis zwei Zellreihen besteht. Dies ist das zweite Muttergewebe, aus welchem Leitelemente (und Markstrahlenzellen) entstehen. Dessen Zellen sind kleiner als die umgebenden Parenchymzellen, aber in der Richtung der Längsachse etwas gestreckt. Dieses Muttergewebe verschmilzt nach oben zu in den Vegetationskegel, nach unten zu schließt es sich dem zentralen Strang an.

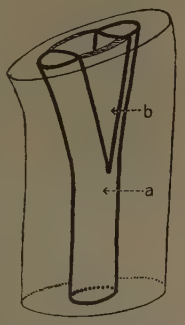


Fig. 5. Die Anordnung der zweierlei Muttergewebe der Prokambien im Hypokotyl: *a* Muttergewebebündel; *b* Muttergewebeplatte.

Beim Beginn der Entwicklung verwandeln sich zuerst die zwei aus den Kotyledonen kommenden Stränge bzw. der aus ihrer Verschmelzung entstehende zentrale Strang in Prokambium. Die walzenförmigen Zellen strecken sich prosenchymatisch, die Färbbarkeit ihres Plasmas steigert sich, ihr Kern vergrößert sich und wird spindelförmig. Diesem folgt kurz darauf die Differenzierung des zweiten Muttergewebes. In diesem entwickeln sich auf beiden Seiten sechs Prokambiumbündel

(Taf. I, Fig. 2)[1]). Diese verbinden sich untereinander und mit dem vorher ausgebildeten Prokambium mittels dünner Bündel, die ebenfalls aus prokambialen Zellen bestehen. Aus den Zellen zwischen den Bündeln bildet sich der primäre Markstrahl des Hypokotyls.

Zu gleicher Zeit beginnt die Bildung der ersten Laubblattanlagen. Da der Vegetationskegel des Embryos nur aus Urmeristem besteht, konnte ich über die Ausbildung des primären Meristemmantels wichtige Beobachtungen machen.

Helm (1932) nennt primären Meristemmantel jenes Gewebe des Vegetationskegels, dessen Zellen von denen der umgebenden Gewebe

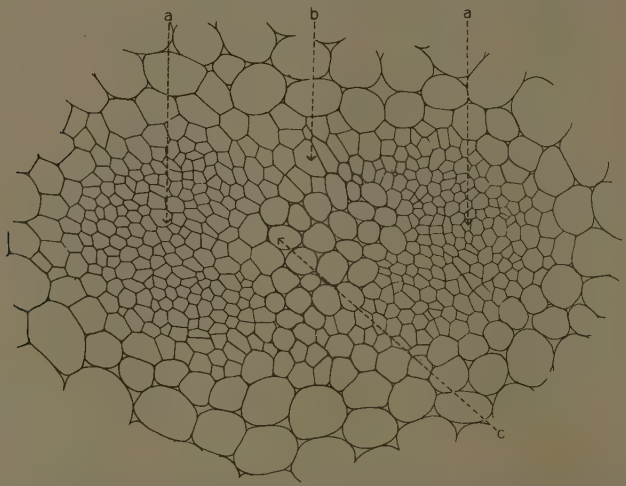


Fig. 6. Querschnitt des embryonalen Hypokotyls: *a* und *b* Prokambienmuttergewebe bei *a* in Bündelform, bei *b* in Plattenform; *c* embryonales Mark.

sich weder durch ihre Form noch durch ihre Dimensionen unterscheiden, sondern nur durch ihre starke Färbbarkeit und durch die Katalase-Reaktion. Dieses Gewebe ist das Muttergewebe des Prokambiums. (Nach meiner Erfahrung ist es unnötig, zum Nachweise des primären Meristemmantels Plasmafarben zu verwenden, da das Plasma dieses Gewebes auch den Kernfarben gegenüber eine starke Affinität zeigt.) Ich konnte unzweifelhaft feststellen, daß die Ausbildung des primären Meristemmantels zu gleicher Zeit mit der Entwicklung der Blattanlage

1) In Taf. I, Fig. 2 sind die sechs Bündel leider nur an einer Seite deutlich wahrzunehmen. (Bemerkung des Herausgebers.)

geschieht (Taf. I, Fig. 3 u. 4). Die Zellen des Vegetationskegels an der Stelle der späteren Anlage übertreffen an Färbbarkeit sogar die Zellen des Urmeristems. Bald darauf erfolgt die Steigerung der Zellteilung.

Sowie sich die erste Blattanlage emporwölbt, vermindert sich in der Vegetationsspitze die Färbbarkeit der Zellschichten, die in die Richtung der Blattanlage fallen, ausgenommen einen aus 2—3 Zellreihen bestehenden Teil. So entsteht eine Gewebeplatte, die von ihrer Umgebung nur durch ihre Färbbarkeit abweicht. Diese stark färbbare Gewebeplatte ist dem primären Meristemmantel homolog. Abwärts schließt sie sich dem Prokambium der aus den Kotyledonen kommenden Bündel an; kurz darauf bildet sich auch in ihr ein Prokambiumnetzwerk, und zwar von unten nach oben zu fortschreitend.

Der Bildung der ersten Laubblattanlage folgt mit einer Divergenz von 180° die Bildung der zweiten Anlage, und die mit ihrer Entwicklung verbundene auch hier erscheinende stark färbbare Gewebeplatte schließt sich dem in Bildung begriffenen Prokambium der ersten Laubblattanlage an. Auf dieser Stufe der Entwicklung finden wir noch keinen zusammenhängenden primären Meristemmantel; dieser entwickelt sich erst dann, wenn gleichzeitig schon drei Anlagen in Ausbildung begriffen sind.

Aus dem primären Meristemmantel bzw. aus der mit ihm homologen stark färbbaren Gewebeplatte bildet sich zuerst jenes Prokambium, aus welchem sofort kollaterale Bündel hervorgehen. Aus dem zwischen diesen Prokambiumbündeln übrig gebliebenen, stark färbbaren Gewebe bildet sich etwas tiefer, also zeitlich später, jenes Prokambium, aus welchem sich primär nur Bastbündel differenzieren. Die später gebildeten prokambialen Bündel werden miteinander sowie mit den zuerst gebildeten Prokambiumbündeln durch prokambiale Brücken verbunden. Auf diese Weise bildet sich dann ein zusammenhängendes Prokambiumnetz.

Diese eigentümliche Art der Prokambiumbildung ist im ganzen Laufe der Entwicklung der Kohlrabipflanze zu finden und hängt mit der Bildung der Knolle nicht zusammen. Die Knollenentwicklung beeinflußt die Entwicklung des Prokambiums nur quantitativ, dann ist nämlich die Zahl der Bündel größer als vor der Bildung der Knolle.

Die Ausbildung der leitenden Elemente aus dem Prokambium beginnt im unteren Teile des Hypokotyls. In der Mitte des zentralen Prokambiumbündels bildet sich ein einziges Holzbündel und von diesem rechts und links je ein Bastbündel. Im Querschnitte erscheint das Holzbündel als eine in der medianen Richtung etwas gestreckte Ellipse. Wenn das Holzbündel sich in die zwei in die Kolyledonen tretenden

Bündel spaltet, spalten sich auch die Bastbündel waagerecht auf die mediane Ebene. Infolgedessen gestaltet sich die Struktur des in die Kotyledonen tretenden Bündels auf die Weise, daß in der Mitte des Bündels der Holzteil sich befindet, an welchen sich rechts und links der Bastteil anschließt. Außer den großen in die Kotyledonen tretenden Bündeln entsteht oft noch ein weiteres, sehr dünnes, Bündel, welches ebenfalls in die Kotyledonen ausbiegt. Dieser Differenzierung folgt bald die Umbildung zum Leitgewebe des prokambialen Netzes, welches die in die Kotyledonen tretenden Bündel verbindet. Aus diesem Netzwerke bilden sich aber primär nur Bastbündel.

So wie im Hypokotyl bilden sich auch in dem Internodium oberhalb des Hypokotyls zuerst die aus Holz und Bast bestehenden Bündel und später, aber ebenfalls primär die Bastbündel. Dasselbe kann man auch bei der Bildung des im peripheren Teile der Knolle befindlichen Bündelnetzes beobachten.

In der Kohlrabipflanze findet die sekundäre Verdickung auf sehr bemerkenswerte Weise statt. Ein zusammenhängender Kambiumring bildet sich auffallend früh. Kaum daß man mit freiem Auge das erste Laubblatt bemerkt, bildet sich schon im Hypokotyl der zusammenhängende Kambiummantel.

In den Internodien unterhalb der Knolle und auch in den unteren Teilen der Knolle entstehen aus den durch das Kambium gebildeten Zellen auch solche Holzelemente, die sich den primär nur Bast enthaltenden Bündeln anschließen. In den Internodien unterhalb der Knolle und in den unteren Teilen der Knolle bildet sich während des sekundären Dickenwachstums ein zusammenhängender Holz- und Bastkörper.

In den höheren Regionen der Knolle finden sich aber Bündel, die bis zu Ende nur aus Bast bestehen (Taf. I, Fig. 5). Aus den durch das Kambium gebildeten Zellen entwickelt sich hier nur Parenchym.

Im sekundären Holz dominieren die Holzfasern, tracheale Elemente sind darin verhältnismäßig wenig, Holzparenchym ist sehr selten (Taf. II, Fig. 6).

In der Richtung der Markstrahlen erzeugt das Kambium in den Teilen, wo sich ein zusammenhängender Holzkörper befindet, Markstrahlzellen mit getüpfelten Wänden.

Es ist noch zu erwähnen, daß sich die Markstrahlzellen oft in Sklerenchymfasern umdifferenzieren. Auf diese Weise werden die benachbarten Bastteile hauptsächlich durch Sklerenchymfasern verbunden. In den Markstrahlen der Knolle hingegen bilden sich oft verbindende Tracheen (Taf. II, Fig. 7).

2. Die Entstehungsweise des Netzwerkes der konzentrischen Bündel.

Das Prokambium des im Inneren der Knolle befindlichen, aus konzentrischen Bündeln bestehenden Netzwerkes entsteht in jenem Meristem, welches aus dem zentralen Teile des Corpus des Vegetationskegels entspringt. Das Mark, welches den großen Teil der Knolle bildet, und das in ihm befindliche Bündelnetzwerk haben gemeinsamen Ursprung. Auch hängt die Entwicklung von beiden eng zusammen, weshalb ich dieselbe gleichzeitig behandle.

Beim Beginn der Bildung der Knolle strecken sich die aus dem zentralen Teile des Corpus entstehenden primären Meristemzellen mit zunehmender Entfernung von der Vegetationsspitze immer weniger und weniger in der Richtung der Längsachse, doch wachsen sie in die Querrichtung. Deshalb verbreitert sich das Primärmeristem nach unten zu immer mehr. Die Zellen, die das Primärmeristem aufbauen und in der Querrichtung abgeflacht sind, zeigen von der Spitze noch weiter entfernt eine isodiametrische Form. Diese isodiametrischen Zellen vermehren, indem sie sich nach allen Richtungen des Raumes teilen, die Masse des meristematischen Markes. Dieses Markmeristem scheidet sich in zwei Teile. Es entsteht ein äußeres-unteres, schwächer färbbares und ein inneres-oberes, stärker färbbares Meristem (Fig. 7). Die äußeren Zellen mit schwächer färbbarem Plasma wachsen stärker als die inneren stärker färbbaren Zellen. Aus dem äußeren Teil entsteht während der späteren Entwicklung das sogenannte Wasserspeichergewebe der Knolle. Aus dem inneren Gewebe hingegen, welches innerhalb des vorigen in Form eines umgekehrten Kegels Platz nimmt, entsteht das Grundgewebe der Knolle und das in dieses eingebettete konzentrische Bündelnetzwerk.

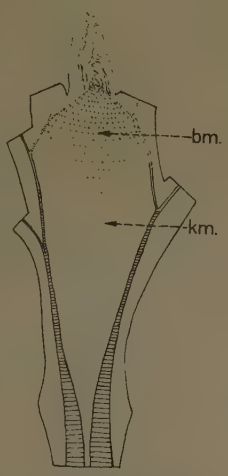


Fig. 7. Anfangsstadium der Knollenbildung (schematisch): *bm* das stärker färbbare innere Meristem, *km* das schwächer färbbare äußere Meristem.

Im unteren Teile des stark färbbaren inneren meristematischen Kegels beginnt bald die Differenzierung der Bündel des Markes. Dieser Prozeß beginnt damit, daß sich ein Netzwerk mit noch stärker färbbaren Zellreihen bildet (Taf. II, Fig. 8), dessen Zellen sich mehrmals nacheinander teilen, dann in der Richtung der zukünftigen Bündelachse stark wachsen, und sich dann zum typischen Prokambium gestalten. Dieses

Prokambium bildet sich gerade so, wie es im Markgewebe der Achse der *Ricinus*-Infloreszenz oder im Nodus der Gramineen beschrieben wurde.

Die Bildung des Prokambiums schreitet nach oben fort, und inzwischen entsteht ein immer mehr sich verzweigendes und sich verbreiterndes Kambiumnetz. In diesem Stadium der Entwicklung, welches nach der Entfaltung des sechsten Laubblattes zu beobachten ist, endigt das Prokambiumnetz oben blind im Grundmeristem, ist also mit dem äußeren Bündelnetz noch nicht in Verbindung. In Kürze aber beginnt die Entwicklung der verbindenden Bündel.

Die Differenzierung der Bündel, welche das äußere und innere Netzwerk verbinden, beginnt in der Weise, daß im obersten Niveau des in Bildung begriffenen prokambialen Netzwerkes das Plasma je einer Zellreihe stärker färbbar wird. Diese Zellreihen befinden sich im Primärmeristem, welches zwischen dem inneren prokambialen Netzwerke und den peripheren Bündeln liegt. Ihre Zellen teilen sich zuerst mehrmals ohne nennenswertes Wachstum und entwickeln sich dann unter starker Streckung zum Prokambium. In den entstandenen Prokambiumbündeln teilen sich die Zellen ständig, wodurch sich der Durchmesser der Bündel vergrößert.

Innerhalb der Prokambiumbündel entstehen zuerst kollenchymatische Zellen, außerdem Siebröhren und Geleitzellen. Ihrer Differenzierung folgt bald die Entwicklung der trachealen Elemente, welche aus den äußersten prokambialen Zellen entstehen (Taf. II, Fig. 9). So bleibt in den Bündeln zwischen dem Bast- und dem Holzteil eine Kambiumscheide, die sich dann dauernd teilt. Aus den durch diese erzeugten Zellen differenzieren sich sehr verschiedene Elemente. Gegen den Bast zu, welcher in der Achse des Bündels liegt, entstehen Siebröhren mit ihren Geleitzellen; nach außen zu entstehen Tracheen und Tracheiden, eingebettet zwischen zahlreiche, dünnwandige, meist prosenchymatische Zellen. Diese dünnwandigen Zellen folgen den Krümmungen der trachealen Elemente; ihre Wände werden während der späteren Entwicklung zuerst kollenchymatisch, dann verdicken sie sich gleichmäßig unter Verholzung. Auf diese Weise entstehen aus ihnen typische Holzfasern. Bei den trachealen Elementen der konzentrischen Bündel werden die Wände der zuerst gebildeten spiralig oder ringförmig verdickt, die später gebildeten haben Netzleistenverdickung, und die spätesten haben Wände mit spaltenförmigen oder runden Hoftüpfeln.

Aus den durch die Kambiumscheide abgetrennten Zellen können sich auch noch andere Zellen bilden. In den Bündeln mit großem Durchmesser bildet sich aus der Kambiumscheide sowohl im Bast- wie auch im Holzteil ein Gewebe dünnwandiger Zellen mit verhältnismäßig

großem und stark färbbarem Kern. In ganz alten Knollen ist die Wand dieser Zellen netzförmig verdickt.

Die trachealen Elemente können übrigens nicht nur auf die schon beschriebene Weise entstehen, nämlich aus Prokambiumzellen, sondern auch unmittelbar aus dem Meristem, das die in Entwicklung befindlichen Bündel umgibt, zwischen je zwei einander nahe liegenden Bündeln. Die eine oder andere Zelle behält auch die Form der Meristemzellen bei.

Die Meristemzellen zwischen den konzentrischen Bündeln teilen sich natürlich auch ständig parallel mit der Entwicklung der Bündel. Inzwischen werden sie stets größer und verlieren bald, wenigstens dem äußeren Anscheine nach, ihren meristematischen Charakter. Ihr plasmatischer Inhalt wird stark reduziert und ihr Zellkern stark verkleinert. Es ist aber auffallend, daß in vielen solchen Zellen nicht ein einziger Zellkern zu finden ist, sondern zwei Kerne.

Obzwar dieses Gewebe den Charakter eines Grundgewebes hat, muß man es doch als Meristem betrachten, denn man kann bei Untersuchung mit starker Vergrößerung in vielen Zellen Teilung beobachten. Bei schwacher Vergrößerung ist diese Teilung wegen der Kleinheit der Kernspindel nicht auffallend. Es ist sehr interessant, daß die einzelnen Phasen der Zellteilung sich in der Weise abspielen, wie es Brieger bei der Regenerationsteilung beobachtete. Namentlich vor der Teilung der Kerne entsteht in den Zellen eine Plasmaplatte, welche sie in zwei Teile teilt. Der Kern wandert in diese Plasmaplatte und teilt sich dann mitotisch. Die Zellteilung folgt aber der Kernteilung bedeutend später, deshalb finden wir in diesem Meristem die erwähnten zweikernigen Zellen.

Die Umwandlung dieses Meristems zum Dauergewebe beginnt unter guten Wachstumsverhältnissen in Knollen von ungefähr 70 mm Durchmesser. Der Übergang in den Dauerzustand beginnt mit der dritten Phase der Entwicklung, mit der Ausbildung des Vegetationskegels der floralen Region. Die Teilung hört zuerst im sogenannten Wasserspeichergewebe auf, also in jenem Gewebe, dessen sehr schwache Regenerationsfähigkeit schon von Vöchting erkannt wurde. Darauf folgt der Übergang in den Dauerzustand des Gewebes oberhalb des Wasserspeichergewebes. Der Übergang schreitet aber nicht gleichmäßig gegen die Spitze vor. In der Nähe der Bündel finden wir nämlich noch dann eine Teilung, wenn dieselbe entfernter von den Bündeln im entsprechenden Niveau bereits aufgehört hat. Gleichzeitig mit dem Übergang des Markmeristems in den Dauerzustand hört nach und nach die Bildung des Prokambiums der konzentrischen Bündel auf. In den schon gebildeten Bündeln steht die Differenzierung der Elemente still.

Auf Grund dieser Feststellungen können wir die ganz ungewöhnliche Regenerationsfähigkeit des Markgewebes der Knolle verstehen. Wir haben nämlich gesehen, daß das Markgewebe der Knolle sehr lange meristematisch bleibt; die Regenerationsfähigkeit der Meristeme ist ja aber allbekannt.

III. Die Bildung der Rindengewebe.

Das Markgewebe der Kohlrabiknolle entsteht auf die Weise, daß das primäre Meristem, welches aus dem zentralen Teil des Corpus stammt, in der Knolle später in den Dauerzustand übergeht als im Markgewebe der Internodien unterhalb der Knolle. Gleiches kann man auch in der Rinde beobachten: die Zellteilung hält in der Rinde der Knolle viel länger an als in den tiefer gelegenen Stengelteilen.

Im Hypokotyl wird die primäre Rinde nur aus sechs Zellreihen aufgebaut, im ersten Internodium schon aus acht, und im nächsten aus zehn. Das setzt sich so weiter fort, bis wir zuletzt in der Rinde der Knolle schon sehr viel Zellreihen beobachten können. Im Vegetationskegel bleibt hingegen das Muttergewebe der Rinde stets sechsreihig.

Der mit dem Wachstum der Knolle verbundenen Peripherievergrößerung folgt die Rinde durch Abschneiden von Zellen in tangentialer Richtung. Die Rinde des Stengelteils unterhalb der Knolle folgt auch eine Zeitlang durch Abschneidung von Zellen dem mit der Verdickung des Stengels verbundenen Wachstum der Peripherie; bald hört aber die Teilung auf, und die Zellen folgen dem Wachstum der Peripherie mit tangentialer Streckung. Später, wenn im Stengel das sekundäre Dickenwachstum schon weit vorgeschritten ist, teilen sich die Zellen wieder durch Wände radialer Richtung, doch die entstandenen Tochterzellen wachsen nicht.

Der Zellteilung und dem Wachstum folgt die Verdickung der Wände. Die Rindenzellen des Hypokotyls, sowie des ersten und zweiten Internodiums nehmen aber daran nicht teil, weil hier die Bildung des sekundären Hautgewebes und der Rinde sehr früh beginnt.

In den unterhalb der Knolle befindlichen Stengelteilen oberhalb des zweiten Internodiums und in der Rinde der Knolle ist die weitere Differenzierung verschieden.

Unterhalb der Knolle bilden sich die äußeren Zellen der Rinde zu Sklerenchym um, unter diesen findet man Parenchym mit großen Interzellularen und zu innerst ein Kollenchym von 4—5 Zellreihen. Demgegenüber liegt in der Rinde der Knolle unter der Epidermis ein Kollenchym von 1—2 Zellreihen, dann folgt in 3—5 Schichten ein durch große Interzellularen aufgelockertes Parenchym, dann wieder ein

Kollenchym, welches nach innen allmählich in Parenchym mit immer dünner werdenden Wänden übergeht.

Hingegen findet man in der primären Rinde des Hypokotyls und der zwei ersten Internodien weder Kollenchym noch Sklerenchym. Diese differenzieren sich erst in der früh entstehenden sekundären Rinde.

Was zuletzt die sekundäre Rinde und das sekundäre Hautgewebe betrifft, wachsen im Hypokotyl vor der Bildung des Phellogens die Zellen der Endodermis in tangentialer Richtung und teilen sich dann mehrmals durch radiale Wände. Die entstandenen Zellen strecken sich etwas in radialer Richtung und teilen sich von neuem durch der Oberfläche parallele Wände. Die Bildung des Phellogens aus der Endodermis beginnt nicht gleichmäßig, sondern es entstehen zuerst nur in einzelnen Teilen derselben Inseln aus teilungstätigen Zellen, die dann später miteinander verschmelzen (Taf. II, Fig. 10). Das Phellogen, welches auf diese Weise entsteht, bildet nach außen Kork, nach innen Phelloderm. Im jungen Zustande sind die das Phelloderm aufbauenden Zellen alle dünnwandig, später werden einzelne kollenchymatisch, dann sklerenchymatisch. Infolge des immer größer werdenden inneren Druckes platzt die primäre Rinde an mehreren Stellen. In der zerreißenden Rinde gehen aber sehr viele Zellen nicht zugrunde, vielmehr beginnen in der aufgerissenen Rinde von neuem Wachstum und Teilung.

Im Stengelteil oberhalb des Hypokotyls entwickelt sich das Phellogen unmittelbar unter der Epidermis. Seine Tätigkeit ist ebenfalls zweiseitig (Taf. II, Fig. 11).

Das Phellogen der Cruciferen entsteht entweder aus der Endodermis oder aus der unter der Epidermis befindlichen Zellreihe. Wie wir sahen, kommen beim Kohlrabi beide Fälle vor.

Zusammenfassung.

Die Hauptergebnisse meiner Untersuchungen sind folgende:

1. In der Entwicklung des Vegetationskegels kann man drei Stadien erkennen. Das erste dauert vom embryonalen Zustande bis zum Beginn der Knollenentwicklung. Im zweiten Stadium, während der Entwicklung der Knolle, verbreitert sich der Vegetationskegel immer mehr. Gegen Ende der Knollenbildung verschmälert er sich allmählich wieder und geht dadurch in das dritte Stadium über, in den Vegetationskegel der floralen Region.

2. Aus dem primären Meristemmantel entstehen zweierlei Prokambien. Aus dem einen entstehen schon primär kollaterale Bündel, aus dem anderen hingegen bilden sich zuerst nur Bastelemente und

erst später, bei der sekundären Verdickung, erscheinen die Holzelemente. Die Bündel zweierlei Ursprunges anastomosieren miteinander und bilden das äußere Netzwerk der Knolle.

3. Das Markgewebe der Knolle entsteht aus dem zentralen Teile des Vegetationskegels auf die Weise, daß die Zellen dieses Teiles sich lebhaft teilen und in jeder Richtung auch wachsen.

4. Das Markgewebe der Knolle bleibt lange im meristematischen Zustande. Diesem Umstand verdankt die Knolle ihre große Regenerationsfähigkeit.

5. Das zentrale Bündelnetzwerk entwickelt sich unabhängig von den Blättern. Die Bündel, welche das zentrale Netzwerk mit dem äußeren Netzwerk verbinden, werden erst später gebildet.

6. Das Periderm entsteht im Hypokotyl aus der Endodermis, in den höher gelegenen Internodien dagegen aus dem unter der Epidermis liegenden Rindenparenchym.

Literatur.

Brieger, F.: Untersuchungen über den Wundreiz. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **42**, 79 (1924). — Helm, J.: Untersuchungen über die Differenzierung der Sproßscheitelmeristeme von Dikotylen unter besonderer Berücksichtigung des Procambiums. Planta, **15**, 105 (1932). — Lund, S. und Kjaerskou, H. (1886; zit. nach Vöchting, 1908, S. 22). — Miltényi, L.: Histologisch-entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen an Getreidearten. (Ungarisch mit deutscher Zusammenfassung.) Botanikai Közlemények, **28**, 1 (1931). — Orsós, O.: Untersuchungen über Organdifferenzierungen. Biol. Zbl. **58**, 366 (1938). — Sárkány, S.: Über Entwicklung und Funktion des interfaszikularen Kambiums bei Ricinus communis. Jb. f. wiss. Bot. **32**, 625 (1936). — Schüepp, O.: Meristeme. Linsbauers Handbuch der Pflanzenanatomie, I. Abt. 2. Teil. Histologie (1926). — Vöchting, H.: Untersuchungen zur experimentellen Anatomie und Pathologie des Pflanzenkörpers. Tübingen 1908. — Weiss, J. E.: Das markständige Gefäßbündelsystem einiger Dikotyledonen in seiner Beziehung zu den Blattspuren. Bot. Cbl. **15**, 280 (1883).

Tafelerklärungen.

Tafel I.

Fig. 1: Keulenförmige Trichomgebilde am basalen Teile der Blattanlage.
Fig. 2: Prokambien bei a der Bastbündel im Hypokotyl.
Fig. 3: Vegetationskegel des Embryos des ruhenden Samens.
Fig. 4: Entstehung der Gewebeplatte (a), die homolog dem Primärmeristem ist; b: junge Blattanlage.
Fig. 5: Querschnitt in der Äquatorialebene der jungen Knolle; a: Bastbündel, b: kollaterales Bündel, c: Kambium.

Tafel II.

Fig. 6: Tangentialer Längsschnitt durch den zusammenhängenden Holzkörper im Stengel unterhalb der Knolle.
Fig. 7: Tracheenbildung im Markstrahlenparenchym.
Fig. 8: Entstehung der Prokambien der leptozentrischen Bündel.
Fig. 9: Tracheenbildung in einem konzentrischen Bündel.
Fig. 10: Peridermbildung im Hypokotyl.
Fig. 11: Peridermbildung im Epikotyl.

Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle.

III. Die Aufnahme saurer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem.

Von **Horst Drawert.**

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Jena.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Der pflanzliche Protoplast ist nach der heute herrschenden Ansicht für Sulfosäurefarbstoffe impermeabel, zumindest sehr schwer permeabel. Diese Auffassung kommt z. B. in folgendem Satz von Collander und Virtanen (1938, S. 499) zum Ausdruck: „Persönlich sind wir nun zwar der Ansicht, daß die hochgradige Impermeabilität der Plasmahäute für Sulfosäurefarbstoffe bereits durch mehrere Beobachtungen so ziemlich einwandfrei nachgewiesen worden ist."

Wenn wir zurückblickend die Literatur überschauen, die sich mit der Aufnahme, nicht nur der sulfosauren, sondern ganz allgemein der sauren Farbstoffe befaßt, so nehmen auch in der Tat die Arbeiten mit negativen Ergebnissen den weit größeren Raum ein. Und die spärlich vorhandenen positiven Angaben sind zum Teil nicht unwidersprochen geblieben, wie weiter unten an einigen Beispielen dargelegt werden soll.

Zunächst will ich einen kurzen Überblick über die in der botanischen Literatur zu findenden wichtigsten positiven Befunde geben.

Schon Pfeffer (1886, S. 266, 267) erwähnt, daß Methylorange nach 20-stündiger Einwirkung vom Plasma der Wurzelhaare von *Trianea bogotensis* gespeichert wird und daß der Zellsaft von *Spirogyra communis* sich rötlich färbt und einen feinkörnigen rötlichen Niederschlag zeigt. Auch Tropäolin 000 wird von *Trianea* nach zweitägigem Aufenthalt in einer 0,01%igen Lösung etwas im Plasma aufgenommen. Ebenso stellte Overton (1900, S. 671) eine langsame Aufnahme für Methylorange und Tropäolin 00 und 000 fest. An einem *Dematium*-artigen Pilz beobachtete Ruhland (1908, S. 30) gelegentlich eine starke Speicherung von Säurefuchsin.

KÜSTER (1912) gelang es dann an abgeschnittenen Sprossen verschiedener Pflanzenarten mit Hilfe des Transpirationsstromes, eine vitale Vakuolenfärbung in den Parenchymzellen längs der Leitbündel mit einer ganzen Reihe saurer Farbstoffe wie Bordeaux R, Echtrot B, Eosin, Erythrosin, Indigocarmin, Lichtgrün FS, Methylorange, Orange G, Patentblau V, Ponceau 2R, Säurefuchsin u. a. zu erzielen. Für saure Farbstoffe von geringerer Dispersität wie Azoblau, Congorot, Trypanrot u. a. konnte KÜSTER dagegen keine vitale Aufnahme mit seiner Methode erreichen. Auf dieselbe Art beobachtete dann RUHLAND (1912) vor allen an *Vicia faba*-Sprossen die Aufnahme von 37 sauren Farbstoffen, während bei 46 Farbstoffen keine Vitalfärbung eintrat.

An Schnitten durch die Zwiebelschalen von *Allium cepa* oder durch Sprosse von *Helianthus annuus*, die in 1—3‰ Lösungen von Cyanol, Erioglaucin, Säurefuchsin u. a. übertragen wurden, stellte RUHLAND (1913, S. 308) schon nach einigen Minuten eine Aufnahme dieser Farbstoffe fest. Um die aufgenommenen Farbstoffe sichtbar zu machen, bediente sich RUHLAND einer starken Plasmolyse der Zellen. Von einer starken und schnellen Speicherung saurer Farbstoffe berichtet auch RHODE (1917). RHODE fand, daß die Aufnahme der Farbstoffe von der Innenreaktion der Zellen abhängig ist. Nur Zellen mit stark saurem Zellsaft wie unreife Äpfel, Stachelbeeren, Rhabarberblätter, einige Blüten speicherten saure Farbstoffe wie Cyanol, Lichtgrün, Bordeaux R, Trypanrot u. a. in wenigen Sekunden bis Minuten. Die geprüften Farbstoffe färbten Zellsaft, Protoplasma und Granula an. Zellen mit neutraler oder alkalischer Innenreaktion konnten durch künstliche C_H-Verschiebungen des Zellsaftes nach der sauren Seite hin zur Aufnahme saurer Farbstoffe veranlaßt werden.

In eingehenden Untersuchungen stellte dann COLLANDER (1921) fest, daß die meisten pflanzlichen Zellen die sauren Farbstoffe nicht bis zu einem Konzentrationsausgleich aufnehmen. Selbst nach einigen Tagen Aufenthalt der Versuchsobjekte in den Farblösungen war die Farbstoffkonzentration in den Zellen 8- bis 160-mal kleiner als in der umgebenden Lösung. Bestimmte Zellen konnten aber auch die sauren Farbstoffe über den Konzentrationsausgleich hinaus aufnehmen, sodaß es zu einer Speicherung kam. Diese auffallenden Zellen gehörten folgenden drei Gruppen an: 1. Blumenblattzellen, 2. jugendliche, noch kaum ausgewachsene Zellen und 3. Zellen, die die Leitbündel umgeben. Die Speicherung der sauren Farbstoffe fand immer nur in homogener Form in der Vakuole statt. Eine Färbung des Protoplasten wurde von COLLANDER nie beobachtet. Ebenso trat nie eine Niederschlags-

bildung auf (S. 375). Die einmal gespeicherten Farbstoffe wurden stark festgehalten, selbst nach 48 Stunden Aufenthalt der gefärbten Zellen in fließendem Leitungswasser nahm die Färbungsintensität nicht ab. Von Außenfaktoren beeinflußten die Temperatur, die C_H, Aluminiumchlorid und Narkotika die Farbstoffaufnahme. Der Temperaturkoeffizient der Aufnahme von sauren Farbstoffen erwies sich viel größer als derjenige der Diffusion (S. 390). Während eine hohe C_H und $AlCl_3$ die Farbstoffaufnahme begünstigten, übten Narkotika einen stark hemmenden Einfluß aus.

Für den Farbstoff Säurefuchsin beschreibt Schaede (1923) eine Aufnahme durch die Wurzelhaare von *Hydrocharis Morsus ranae*, und zwar entstanden in der Vakuole orangefarbige Körnchen und wolkige Ballen (S. 85). Mit Methylrot gelang es Schaede (1924) in der Oberepidermis der Schuppenblätter von *Allium cepa* eine Vitalfärbung von Cytoplasma und Kern mit gelbem Farbton zu erzielen. Die Unterepidermis desselben Objektes speicherte dagegen das Methylrot außer im Protoplasma (gelb) auch in der Vakuole (mit rotem Farbton), wo der Farbstoff bald zu Entmischungen führte.

Nach Scarth (1926) speichern die Blätter von *Anthericum* Säurefuchsin in der Vakuole. *Spirogyra* nimmt dagegen Eosin und Säurefuchsin erst nach einer Vorbehandlung mit Essig- oder Zitronensäure auf. Auch eine gleichzeitige Plasmolyse mit Rohr- oder Traubenzucker soll die Permeabilität der *Spirogyra*-Zellen für Eosin und Säurefuchsin erhöhen, so daß es zu einer Aufnahme der Farbstoffe kommt (Scarth, 1927). In derselben Richtung soll nach Banus (1927) bei *Spirogyra* eine elektrische Reizung wirken. Die Durchleitung eines elektrischen Stromes bewirkte für kurze Zeit eine Permeabilität des Plasmas für Cyanol und Säurefuchsin, aber nicht für das schwerer diffundierende Isaminblau.

Für eine Reihe von Xanthenfarbstoffen aus der Gruppe der Oxyfluorone ist besonders für Eosin und Erythrosin seit den Arbeiten von Küster (1926), Gicklhorn (1927, 30), Albach (1928) und Strugger (1931) immer wieder eine vitale Aufnahme durch den Kern und das Cytoplasma beobachtet worden. Auch bei den zu dieser Gruppe gehörenden Fluoreszeïnen konnte immer wieder eine vitale Speicherung in pflanzlichen Zellen erzielt werden (vgl. z. B. Gicklhorn 1927, Schumacher 1933, Döring 1935, Strugger 1938). Ich will deshalb auf diese Farbstoffe und auf die mit ihnen erzielten Ergebnisse hier nicht weiter eingehen.

Bailey und Zirkle (1931) erzielten mit Methylrot in den Kambiumzellen von Bäumen eine Färbung des Vakuoms. Gicklhorn und

Dejdar (1931) erhielten mit Blättern von *Scilla sibirica* nach 6—8 Stunden eine Speicherung von Säurefuchsin im Mesophyll, und Strugger (1932) beschreibt eine Färbung der Caryolymphe und der Nukleolen lebender Kerne von *Allium cepa* außer mit Eosin und Erythrosin auch mit Anilinblau und Lichtgrün. Weiter beobachtete Rehm (1935) bei Transpirationsversuchen eine starke Speicherung von Cyanol in den Zellen der Leitbündelscheiden der Blätter von *Impatiens balsamina*. Nach Bünning (1936) nehmen die Hyphen von *Aspergillus niger* die Farbstoffe Cyanol, Lichtgrün, Methylorange, Orange G und Fuchsin S bei hoher Azidität der Farblösungen auf. In den Perigonblättern von Tulpen und Hyazinthen speichern die Parenchymzellen längs der Leitbündel nach Collander und Holmström (1937) Orange G und Cyanol nur bei Gegenwart von Sauerstoff. An Pollenmutterzellen von *Lilium speciosum* erzielte Yamaha (1938) mit einer ganzen Reihe saurer Farbstoffe eine vitale diffuse Cytoplasmafärbung. Außer mit Eosin und Erythrosin beobachtete Rehm (1938) auch mit Säurefuchsin in den Wurzelzellen von *Impatiens balsamina* eine vitale Kern- und Cytoplasmafärbung.

Gegenüber einem Teil dieser positiven Angaben sind nun folgende Einwendungen erhoben worden.

Collander (1921) führte gegen die Versuche Ruhlands an *Allium cepa* und *Helianthus* ins Feld, daß dieser Autor durch abnorme, im Absterben begriffene Zellen irregeführt worden sein soll. Collander erhebt diesen Einwand auf Grund seiner Erfahrungen, daß Zellen, die stärker saure Farbstoffe speicherten, einen abnorm niedrigen und wechselnden Turgor hatten, unregelmäßige Plasmolyseformen annahmen und nicht mehr deplasmolysierbar waren (S. 371, 372). Dem widersprechend berichten in jüngster Zeit aber Yamaha und Nomura (1939) wieder über eine Vitalfärbung an *Allium cepa* mit sauren Farbstoffen, und zwar färbte sich das Plasma der Oberepidermis der Schuppenblätter mit Bengalrosa, Aurantia und Methylrot (vgl. auch Schaede 1924), während die Vakuole Orange G, Methylorange, Methylrot, Fuchsin S und Cyanol extra in 30—60 Minuten speicherte.

Gegen Rhodes Versuche (1917), die die Grundlage der Reaktionstheorie Bethes bilden, betont Collander (1921), daß die zur Änderung der Innenreaktion der Zellen benutzten Azetatgemische stark giftig sind und die Phosphatgemische gar nicht eindringen. Die Azetate wirken also schädigend, und die Phosphate können nur die Außenreaktion bestimmen bzw. die Eigenschaften der Plasmahaut ändern (S. 398, 399). Und v. Möllendorf (1925) schreibt: „Die Bilder, die

der RHODEschen Arbeit beigefügt sind, zeigen nun jedenfalls, daß es sich hier offenbar um Farbstoffspeicherungen handelt, die mit dem Leben gar nicht verträglich sein können . . . . und, soweit sie sich auf Pflanzen beziehen, sicherlich nicht für lebende Zellen ausgewertet werden dürfen" (S. 287).

Daß die Angaben RHODES unhaltbar sind, geht auch schon aus dem in der Arbeit enthaltenen Widerspruch hervor, auf den meines Wissens bisher noch nicht in der Literatur aufmerksam gemacht worden ist. Entsprechend der BETHEschen Theorie fand RHODE, daß Zellen mit hoher Azidität nur saure Farbstoffe speichern und Zellen mit neutraler oder alkalischer Reaktion nur basische Farbstoffe. Die Reaktion des Zellinnern bestimmte RHODE außer durch elektrometrische Messungen an Preßsaft auch durch Vitalfärbung mit den Indikatoren Neutralrot, Methylrot und Methylorange. Methylrot und Methylorange sind nun aber genau so saure Azofarbstoffe wie die benutzten Bordeaux R extra, Ponceau 4R und Trypanrot. Der von RHODE zu beweisenden Theorie widersprechend, müssen in seinen Versuchen aber auch Pflanzenzellen mit schwach saurer oder alkalischer Innenreaktion die beiden sauren Indikatorfarbstoffe aufgenommen haben; denn er bestimmt ja mit ihnen auf dem Wege der Vitalfärbung die C_H der Zellen (S. 421). Der von ihm vertretenen Theorie zu Folge durften Methylrot und Methylorange von diesen Zellen ebenso wenig aufgenommen werden wie die anderen von ihm geprüften sauren Farbstoffe.

Ein Vergleich der Ergebnisse RHODES mit den von mir (DRAWERT 1937a, b) an toten Pflanzenzellen erhaltenen Befunden zeigt wohl die volle Berechtigung des Einwandes VON MÖLLENDORFS, daß RHODE seine Versuche in der Tat zum Teil an toten oder mindestens an absterbenden Zellen durchgeführt hat.

Eine Wiederholung der Versuche von BANUS (1927) durch GICKLHORN und DEJDAR (1931) ergab, daß auch diesem Autor nur durch den elektrischen Strom geschädigte Zellen von *Spirogyra* vorgelegen haben müssen; denn GICKLHORN und DEJDAR fanden, daß nur geschädigte *Allium*-Epidermiszellen und *Spirogyra*-Fäden saure Farbstoffe nach einer elektrischen Reizung speichern, während auf die Farbstoffaufnahme normaler, gesunder Zellen der elektrische Strom keinen Einfluß hat. Wenn die elektrische Reizung aber doch eine Wirkung auf die Farbstoffaufnahme ausüben sollte, dann wird sie die Bedingungen der Farbstoffspeicherung in den Zellen ungleich stärker beeinflussen als die Permeabilität (S. 612).

Auf diese Befunde hin untersuchte Höber (1933) nochmals die Einwirkung des elektrischen Stromes auf die Farbstoffaufnahme, mit dem Ergebnis, daß er die Angaben von Banus vollkommen bestätigen konnte: *Spirogyra* soll nach einer elektrischen Reizung Cyanol speichern, bevor die Zellen irgend eine Schädigung zeigen. Die Einwände Gicklhorns und Dejdars werden abgelehnt.

In einer neueren Arbeit befaßt sich auch Suolathi (1937) mit der Frage. Um auch geringe Farbstoffmengen in der Zelle nachweisen zu können, benutzte er nicht *Spirogyra*, sondern die durch viel größere Zellen ausgezeichnete *Chara ceratophylla*. Prüfungen mit Cyanol, Orange G und Säurefuchsin ergaben eindeutig, daß die Zellen auch unter der Einwirkung des elektrischen Stromes keine sauren Farbstoffe aufnehmen. Die Beobachtungen von Banus und Höber an *Spirogyra* konnten also an *Chara* nicht bestätigt werden.

Die Ergebnisse Bünnings (1936), daß die Hyphen von *Aspergillus niger* Cyanol, Methylorange, Orange G, Lichtgrün und Fuchsin S aufnehmen sollen, wurden von Collander und Virtanen (1938) nicht bestätigt. Verff. fanden, daß nur tote Hyphen sich färben, dagegen nie lebende. Die beiden Autoren ziehen den schon am Anfang der vorliegenden Arbeit erwähnten Schluß, daß die hochgradige Impermeabilität der Plasmahäute für Sulfosäurefarbstoffe ziemlich einwandfrei nachgewiesen worden ist (S. 499).

Dem widersprechend berichtet aber neuerdings Küster (1940) über eine vitale Speicherung von Fuchsin S in den Vakuolen der Sporangienträger von *Phycomyces Blakesleeanus*. Daß es sich hier in der Tat um eine rein vitale Farbstoffspeicherung handelte, geht aus den Angaben Küsters hervor, daß die gefärbten Sporangienträger ihr Wachstum weiter fortsetzten und normale Sporangien entwickelten (S. 155). Ein Zusatz von Phosphorsäure bedingte auch eine Färbung des Plasmas, das nach dieser Behandlung noch normal plasmolysierbar blieb (S. 156). Auch an den vegetativen Hyphen war erst nach Säurezusatz eine vitale Fuchsinfärbung wahrzunehmen. Mit Lichtgrün konnten an demselben Objekt nur schwache Vakuolenfärbungen erzielt werden. Gelegentliche Beobachtungen an *Penicillium glaucum* ergaben keine intravitale Färbung der Hyphen mit Fuchsin S. — Über negative Ergebnisse an Phycomyceten berichten Guilliermond und Gautheret (1938), die mit *Saprolegnia* arbeiteten.

Aus dem soeben geschilderten augenblicklichen Forschungsstand über die Aufnahme saurer Farbstoffe durch die pflanzliche Zelle geht hervor, wie ungeklärt heute noch das ganze Problem ist. Die Pflanzen-

zellen scheinen nach den vorliegenden Ergebnissen tatsächlich im Sinne einer „physikalischen Permeabilität" für die meisten sauren Farbstoffe impermeabel zu sein. Die wenigen bisher von allen Seiten bestätigten Fälle einer stärkeren Aufnahme saurer Farbstoffe, mit Ausnahme der Oxyfluorone unter den Xanthenfarbstoffen, durch die Zellen der Leitbündelscheiden der Sproßachsen, der Laub- und Blumenblätter werden auf eine „adenoide Tätigkeit" (Overton, 1900) bzw. „physiologische Permeabilität" (Höber, 1926) dieser Zellen zurückgeführt.

Collander versucht diesen etwas vagen Begriffen einen prägnanteren Inhalt zu geben, indem er die „adenoide Tätigkeit" von der energetischen Seite betrachtet. Die „adenoide Tätigkeit" soll eine Arbeitsleistung der Zelle darstellen, die eine dauernde Energielieferung voraussetzt (Collander und Holmström 1937, S. 131). An Stelle der „passiven Permeabilität" wird also eine aktive Beteiligung des Protoplasten an dem Stoffaustausch angenommen (S. 129).

Bei der Untersuchung über die Aufnahme der basischen Farbstoffe zeigte es sich, daß der Permeabilität nicht die ausschlaggebende Rolle zukommt, die ihr bisher zugemessen wurde. Wenn die Permeabilität in den Aufnahmevorgang hemmend eingriff, so geschah dies nur nach dem Ultrafilterprinzip Ruhlands (Drawert 1938, 39, 40). Der Dissoziationsgrad, die hydrolytische Spaltung und der Gehalt der Zellen an speichernden Stoffen hatten einen Einfluß auf den Verteilungskoeffizienten und damit auch auf die Aufnahme der basischen Farbstoffe durch die lebende Zelle. Es soll in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, wie weit dieselben Faktoren auch die Aufnahme der sauren Farbstoffe bestimmen.

Als Versuchsobjekte benutzte ich Blumenblätter, die in Vorversuchen im Vergleich mit anderen Pflanzenorganen die besten Ergebnisse gaben. Über eine Speicherung saurer Farbstoffe durch Blumenblätter sind auch schon bei Rhode (1917), Collander (1921) und Collander und Holmström (1937) Angaben zu finden, und zwar zeichnen sich nach diesen Untersuchungen vor allem die Parenchymzellen längs der Leitbündel durch eine intensive Farbstoffaufnahme aus.

Bisher habe ich die Aufnahme von Cyanol bzw. Sulforhodamin B an Blüten von 187 Arten aus 56 Familien untersucht. Von den 187 geprüften Arten zeigten 32 überhaupt keine Farbstoffaufnahme. Bei anderen Arten färbten sich entweder nur die Leitbündelscheiden, nur die Epidermen, nur das Mesophyll oder alle Gewebe des Blumenblattes. An den Vertretern derselben Familie beobachtete ich immer ein sehr

ähnliches Verhalten, nur die Carotinoide führenden Blüten wiesen bei Familien, die vor allem eine starke Speicherung in den Epidermen zeigten, ein abweichendes Verhalten auf. Carotinoide scheinen nach den bisherigen Erfahrungen eine Aufnahme saurer Farbstoffe in die Zelle auszuschließen. Weiter war die Färbung auch vom Alter der Blumenblätter abhängig. Während bei den meisten Blüten der Farbstoff in der Hauptvakuole gespeichert wurde (eine Cytoplasma- oder Kernfärbung trat mit Ausnahme der bekannten Oxyfluoronfarbstoffe nie auf), lokalisierten die Malvaceae, Oxalidaceae, Rosaceae, Primulaceae u. a. den Farbstoff in kleinen, im Plasmaschlauch der beiderseitigen Epidermiszellen vorhandenen Vakuolen. Die Hauptvakuole nahm keinen Farbstoff auf. Auch in diesem Fall blieben die kleinen „Plasmavakuolen" in Chromoplasten führenden Epidermen farblos. Diesen Speicherungstypus hat schon RUHLAND (1912) beobachtet; denn er erwähnt in einer Fußnote (S. 387), daß in der Epidermis der Petalen von *Cyclamen* Säuregrün nur in besonderen, wandständigen, sehr kleinen, ursprünglich farblosen Vakuolen solcher Zellen gespeichert wird, die in der Hauptvakuole Anthocyan enthalten.

Auf alle diese Unterschiede soll aber erst in einer späteren Arbeit, wenn ein größeres Versuchsmaterial vorliegt, eingegangen werden. Die folgenden Ausführungen beziehen sich vor allem auf *Philadelphus coronarius*, *Ph. Lemoinei*, *Chrysanthemum leucanthemum* und *Matricaria inodora* als Versuchsobjekte, da es zunächst wichtig erschien, eine Reihe saurer Farbstoffe möglichst an demselben Objekt zu prüfen.

I. Methode.

Zur Untersuchung gelangten die in Tabelle I aufgeführten 60 sauren Farbstoffe. Die Farbstoffe wurden, sofern in den Versuchsprotokollen nicht besonders vermerkt, in der Konzentration 1 : 1000 (0,1%) entweder in destilliertem Wasser oder in Phosphatpuffern (vgl. DRAWERT 1937, S. 92, Tab. 2 und 1938, S. 182) gelöst, verwendet. Als Versuchsobjekte dienten in erster Linie die weißen Blumenblätter von *Philadelphus coronarius* und *Philadelphus Lemoinei* sowie die weißen Strahlenblüten der Körbchen von *Chrysanthemum leucanthemum*, in einigen Fällen auch die von *Matricaria inodora* und von *Anacyclus Pyrethrum*. Bei einzelnen Farbstoffen wurden auch die Epidermen der Schuppenblätter von *Allium cepa* als Vergleichsobjekte herangezogen. Die Blumenblätter zerschnitt ich mit einer Schere senkrecht zur Längsachse in einige Stücke. Die Stücke wurden dann mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe mit der zu untersuchenden Farbstoff-

Tabelle 1. Liste der untersuchten sauren Farbstoffe nach Verwandtschaften geordnet. Hinter den einzelnen Farbstoffen sind in Klammern die Bezugsfirmen angegeben.

I. Nitrosofarbstoffe.

1. Naphtolgrün B (I. G.)

II. Nitrofarbstoffe.

1. Anilingelb (Grübler)

III. Azofarbstoffe.

a) Monoazofarbstoffe.

1. Alizaringelb GG (Merck)
2. Azofuchsin G (I. G.)
3. Azogrenadin S (I. G.)
4. Bordeaux R (Grübler)
5. Brillantorange R (Hollborn)
6. Echtrot A (Hollborn)
7. Metanilgelb Ia (Hollborn)
8. Methylorange (Grübler)
9. Methylrot, wasserlöslich (Merck)
10. Orange G (Grübler)
11. Orange IV (I. G.)
12. Palatinscharlach A (I. G.)
13. Palatinscharlach 3 R (I. G.)
14. Ponceau (Hollborn)
15. Sulfonsäureblau B (I. G.)
16. Thiazinrot R (I. G.)
17. Victoriaviolett 4 BS (I. G.)

b) Disazofarbstoffe.

1. Anilinschwarz ? (?)
2. Azoblau (Hollborn)
3. Benzoblau RW (I. G.)
4. Benzoviolett O (I. G.)
5. Chicagoblau B (I. G.)
6. Columbiablau G (I. G.)
7. Congorot (Grübler)
8. Trypanblau (Hollborn)
9. Trypanrot (Hollborn)
10. Tuchrot B (I. G.)
11. Tuchrot 3 GA (Grübler)

IV. Triphenylmethanfarbstoffe.

1. Anilinblau (Hollborn)
2. Corallin, rotes (?)
3. Cyanol (Grübler)
4. Echtsäureblau B (I. G.)
5. Lichtgrün SF (Hollborn)
6. Methylblau (Hollborn)
7. Patentblau V (I. G.)
8. Säurefuchsin (Grübler)
9. Wasserblau (Hollborn)

V. Xanthenfarbstoffe.

a) Aminofluorime.

1. Sulforhodamin B (I. G.)
2. Sulforhodamin G (I. G.)
3. Violamin R (I. G.)

b) Oxyfluoronfarbstoffe.

1. Eosin bläulich (Kahlbaum)
2. Eosin W gelblich (Grübler)
3. Erythrosin (Merck)
4. Fluoresceïn R (I. G.)
5. Kalium-Fluoresceïn (Merck)
6. Phloxin BBN (Merck)

VI. Azinfarbstoffe.

1. Azocarmin SH (I. G.)
2. Heliotrop 2 B (I. G.)
3. Nigrosin GGA wasserlöslich (I. G.)

VII. Chinonfarbstoffe.

1. Alizarinrot SW (I. G.)
2. Indanthrenblau BCS (I. G.)
3. Indanthrenrot 5 GK (I. G.)

VIII. Indigoide Farbstoffe.

1. Indigocarmin (Hollborn)

IX. Anorganische Farbstoffe.

1. Berlinerblau, löslich (Grübler).

X. Farbstoffe unbekannter Zugehörigkeit.

1. Boraxcarmin (?)
2. Congocorinth (Grübler)
3. Picrocarmin (?)
4. Titangelb (Merck).

lösung so lange infiltriert, bis die Interzellularenluft ganz oder zum größten Teil verdrängt war. Ein Teil der Stückchen tauchte nach dieser Behandlung unter, ein anderer blieb auf der Farbstofflösung schwimmen. In den Ergebnissen konnte kein Unterschied zwischen den untergetaucht bleibenden und den schwimmenden Stückchen festgestellt werden. Die Farblösungen mit den Blumenblättern kamen dann in kleine Glasschälchen mit Deckel.

Wie Vorversuche ergaben, war eine leichte Farbstoffspeicherung häufig schon nach 2 Stunden, etwas stärker nach 5 Stunden zu beobachten. Nach 15 Stunden Aufenthalt zeigten die Zellen, sofern der Farbstoff überhaupt aufgenommen wurde, eine schöne Vakuolenfärbung. Die in dieser Arbeit niedergelegten Versuchsergebnisse beziehen sich, wenn nicht anders bemerkt, auf einen 15-stündigen Aufenthalt der Blumenblätter in den Farblösungen. Die Versuche wurden am Spätnachmittag angesetzt und am nächsten Vormittag protokolliert. Sobald die Zimmertemperatur unter 20° C sank, kamen die Glasschälchen mit den Lösungen in einen dunklen Elektrothermostaten mit einer Temperatur um 22° C.

Zur Prüfung der Ergebnisse mikroskopierte ich die Gewebestücke zunächst in destilliertem Wasser bzw. in der entsprechenden Pufferlösung. Darauf kamen die Stücke in eine 1 vol. mol. Traubenzucker-Lösung, um mit Hilfe der Plasmolyse ganz sicher zu entscheiden, welche Gewebepartien gefärbt waren. Vor allem bei der Beurteilung des Mesophylls erwies sich die Plasmolyse sehr nützlich, da man sonst häufig durch Ansammlung der Farbstofflösung in den Interzellularen irregeführt werden kann, bzw. bei einer starken Färbung der Epidermen eine Farbstoffspeicherung in den Mesophyllzellen sich kaum feststellen läßt, besonders wenn diese schwächer als die der Epidermiszellen ist.

Zur Feststellung des elektrischen Ladungssinnes der Farbstoffe wurde die früher beschriebene Apparatur (DRAWERT 1938, S. 190, 191) benutzt.

Zur Prüfung der Löslichkeit in organischen Flüssigkeiten schüttelte ich die wässerige Lösung in einem Reagenzglas mit dem gleichen Volumen Chloroform gut durch und ließ dann absitzen. Zur Prüfung des Einflusses einer freien organischen Base auf die Verteilung des Farbstoffes zwischen organischer und wässeriger Phase diente in Anlehnung an die Modellversuche von NIRENSTEIN (1920) Diamylamin iso rein von Schering-Kahlbaum. Und zwar wurden nach der völligen Trennung der beiden Phasen im Schüttelversuch mit reinem Chloroform zu demselben Gemisch 3—5 Tropfen Diamylamin zugesetzt und darauf nochmals geschüttelt und die Verteilung des Farbstoffes geschätzt.

Die Aufnahme einiger Farbstoffe prüfte ich auch mit der Transpirationsmethode nach Küster (1912) an den kurz über den Wurzeln abgeschnittenen blühenden Sprossen von *Impatiens parviflora* und *I. noli tangere*. Die Sprosse blieben mit der Schnittfläche für 15 Stunden in den Farblösungen, darauf wurden durch den jüngeren Teil der Sproßachse bzw. durch Blattstiele Querschnitte gemacht und nach einer Plasmolyse in 1 vol. mol. Traubenzucker die Farbstoffverteilung bestimmt.

Zur Molekulargewichtsberechnung der Farbstoffe benutzte ich die in Schultz (1931) Band I angegebenen Bruttoformeln.

II. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration:

a) auf die Wanderung der Farbstoffe im elektrischen Feld;
b) auf ihre Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln und
c) auf ihre Aufnahme durch die lebende Pflanzenzelle.

In den folgenden Versuchsprotokollauszügen werden außer den Befunden mit gepufferten Farblösungen auch die Ergebnisse mitgeteilt, die mit in reinem destillierten Wasser gelösten Farbstoffen erzielt wurden.

Der besseren Übersicht halber werden die Farbstoffe nicht in der Reihenfolge ihrer chemischen Verwandtschaft, sondern alphabetisch aufgeführt. Die Klammer hinter dem Namen bezieht sich auf die Farbstoffgruppen in Tabelle I auf S. 29. Die Zahl nach der Klammer gibt die Nummer an, unter der der Farbstoff in Schultz, Farbstofftabellen, 7. Aufl. (1931), Bd. I, zu finden ist. Dann folgt das Molekulargewicht. In der ersten Zeile unter dem Farbstoffnamen werden in einer Klammer die gebräuchlichsten Synonyme des betreffenden Farbstoffes aufgeführt. Über weitere Synonyme muß auf Schultz (1931) verwiesen werden.

Die Abkürzungen bedeuten: Mol.Gew. = Molekulargewicht, *Phil.* = *Philadelphus coronarius* bzw. *Ph. Lemoinei*, die sich vollkommen gleich verhielten, *Chrys.* = *Chrysanthemum leucanthemum*, *Matr.* = *Matricaria inodora*. Die Namen der anderen seltener benutzten Pflanzenarten sind in dem Protokollauszug ausgeschrieben.

Die angegebenen pH-Werte sind Mittelwerte.

Die Steighöhenangaben in den Elektrophoreseversuchen beziehen sich auf die Anstiegshöhe des Farbstoffes, die in dem als Anode dienenden Filtrierpapierstreifen nach 15 Minuten erreicht wurde. Es bedeuten: Niedrige Steighöhe bis 1 cm, mittlere bis zu 2,5 cm und große höher als 2,5 cm über der Eintauchzone.

1. Alizaringelb GG (III, a, 1); 55; Mol.Gew. 309,1 (Antracengelb GG, Salicingelb A, Metachromgelb RA). Benutzt wurde eine gesättigte Lösung, deren Konzentration geringer war als 0,1%. Farbton: pH 2,0—3,8 Farbstoff fällt aus; pH 4,5—8,0 gelb; pH 9,5 gelborange; pH 11,5 orange. Wanderung: pH 2,0 keine Wanderung; pH 3,1 schwach zur Anode; über pH 4,0 eindeutig zur Anode mit niedrigen (hohe C_H) bis mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0—3,1 quantitativ mit gelbem Farbton; pH 4,6 etwas; pH 5,6 Spur; über pH 6,6 gar nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 quantitativ mit gelbem Farbton; pH 5,6—6,6 der größte Teil; über pH 8,0 ungefähr im Verhältnis 1:1 löslich. Olivenöl + Diamylamin: Der in dest. Wasser gelöste Farbstoff ist stark löslich. Vitalfärbung: Blumenblätter: Nach 15 Stunden alles tot. Oberepidermis von *Allium cepa*-Schuppenblätter nach 15—30 Minuten gute vitale Kern- und Cytoplasmafärbung: pH 2,0 alles tot, Kerne und Plasma stark gefärbt; pH 3,1—5,6 vitale Kern- und Plasmafärbung mit starker Vakuolenkontraktion; pH 6,6 kaum etwas sichtbar gefärbt, aber noch Vakuolenkontraktion; über pH 8,0 alles farblos, keine Vakuolenkontraktion.

2. Alizarinrot SW (VII, 1); 1145; Mol.Gew. 360,1. Farbton: pH 2,0—3,1 gelb; pH 4,1 orange; pH 5,2—10,0 rot; über pH 10,0 rotviolett. Wanderung: Eindeutig zur Anode: pH 2,0 stark; mit fallender C_H abnehmend bis pH 5,0; dann wieder ansteigend und über pH 10,5 sehr starke Wanderung mit mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—5,2 der größte Teil mit weinrotem Farbton; pH 6,6 der größere Teil; pH 8,0 der kleinere Teil; über pH 10,0 gar nicht löslich. Olivenöl + Diamylamin: Der in dest. Wasser gelöste Farbstoff ist stark löslich. Vitalfärbung: Weder die Blumenblätter von *Chrys.* noch die Epidermen der Schuppenblätter von *Allium cepa* nehmen den Farbstoff auf. In den abgestorbenen Zellen sind bei pH 2,0 die Kerne und das Cytoplasma gelb gefärbt.

3. Anilinblau (IV, 1); ?; Mol.Gew. ?. Zeigt ein dem Methylblau sehr ähnliches Verhalten. Farbton: pH 2,0 dunkelblau, wird mit fallender C_H immer heller und blaßt bei pH 11,4 vollkommen aus. Wanderung: Stark zur Anode mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Nach 2 bis 3 Stunden blaßt die wässerige Phase vollkommen aus. Vitalfärbung: *Matr.* pH 2,0 alles tot, in den äußeren Zellreihen Kerne und Cytoplasma blau gefärbt. pH 3,1—11,4 Zellen lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Matr.* und *Chrysanthemum indicum* (weiß): alles farblos.

4. Anilingelb (II, 1); 18; Mol.Gew. 274,1 (Martiusgelb, Naphtylamingelb, Goldgelb). Benutzte Lösung 1:5000 = 0,05%. Farbton: Gelb; von pH 2,0—3,5 fällt der Farbstoff aus. Wanderung: pH 2,0—11,5 zur Anode, etwas schwächer bei pH 2,0, mit mittleren (hohe C_H) und großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0—3,5 quantitativ mit hellgelbem Farbton; pH 4,4—6,0 der kleinere Teil; pH 7,0 nur Spuren; über pH 8,0 nicht mehr löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—8,5 quantitativ; pH 10,0 fast quantitativ; pH 11,5 der größere Teil mit goldgelbem Farbton löslich. Olivenöl + Ölsäure (3:1): pH 2,0—4,5 quantitativ; pH 5,0 der größte Teil; pH 6,5—11,5 der kleinere Teil löslich. Vitalfärbung: Oberepidermis der Schuppenblätter von *Allium cepa*: pH 2,0 alles tot, farblos; pH 3,5—7,0 gute Kern- und Cytoplasmafärbung; über pH 9,0 nichts mehr eindeutig gefärbt.

5. Anilinschwarz, wasserlöslich (III, b, 1); ?; Mol. Gew. ?. Farbton: Bei allen pH-Werten blauschwarz. Wanderung: pH 2,0—11,5 stark zur Anode, etwas schwächer bei pH 2,0; mit mittleren (hohe C_H) und großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0—4,6 organische Phase schwach blau gefärbt, wässerige Phase bleibt aber undurchdringlich blauschwarz; pH 6,8 organische Phase Spur blau; über pH 8,0 nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 der kleinere Teil etwa im Verhältnis 1:3; pH 6,8—10,0 etwas; pH 11,5 Spur löslich. Farbton in der organischen Phase: Im durchfallendem Licht rotviolett, im auffallendem Licht rotbraun. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma blau gefärbt; pH 3,1 nur einige Mesophyllzellen längs der Leitbündel mit blauer Vakuolenfärbung; über pH 4,0 alles farblos. Aus einer Lösung 1:1000 in dest. Wasser nehmen die Blumenblätter von *Malope grandiflora* und *Oenothera biennis* keinen Farbstoff auf, während die Mesophyllzellen von *Phil.* das Anilinschwarz schwach in der Vakuole speichern.

6. Azoblau (III, b, 2); 460; Mol. Gew. 726,3 (Benzoinblau R). Farbton: Bei allen pH-Werten violettblau. Wanderung: pH 2,0—11,5 schwach zur Anode, bei 11,5 etwas stärker, mit niedrigen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—10,0 der kleinere Teil; etwa im Verhältnis 1:2; pH 11,5 ungefähr im Verhältnis 1:3 mit karminrotem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma violett gefärbt; über pH 3,1 Zellen lebend, farblos. Auch *Phil.* bleibt farblos.

7. Azocarmin SH (VI, 1); ?; Mol. Gew. ?. Farbton: pH 2,0—7,0 karminrot; über pH 8,5 rotviolett. Wanderung: pH 2,0—11,5 stark zur Anode mit großen Steighöhen, etwas schwächer bei pH 2,0. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—7,0 der größere Teil; pH 8,5 im Verhältnis 1:1; über pH 10,0 nur noch schwach löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; über pH 3,1 Zellen lebend mit guter Vakuolenfärbung; über pH 10,0 Vakuolenfärbung schwächer. *Phil.* gute Vakuolenfärbung im Mesophyll zum Teil mit Niederschlag. Auch in den Unterepidermiszellen von *Chrys.* traten häufig nach der Färbung Ausfällungen auf, während die Oberepidermiszellen immer nur diffus gefärbt waren. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* und *Phil.* gute Vakuolenfärbung.

8. Azofuchsin G (III, a, 2); 190; Mol. Gew. 468,2 (Fuchsin G extra). Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: pH 2,0—11,5 stark zur Anode mit großen Steighöhen, bei pH 2,0 etwas schwächer. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 im Verhältnis 1:1; pH 3,1—6,8 der kleinere Teil mit rotem Farbton; über pH 8,0 nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Phil.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—7,5 Vakuolen gefärbt, mit fallender C_H schwächer; pH 9,3 zum Teil nur Mesophyllzellen längs der Leitbündel mit Vakuolenfärbung; über pH 10,5 mit Ausnahme einzelner Zellen alles farblos. Die Ober- und Unterepidermiszellen der Schuppenblätter von *Allium cepa* bleiben, außer einzelnen Zellen in der Unterepidermis, die gute Vakuolenfärbung zeigen, farblos. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* und *Phil.* gute Vakuolenfärbung.

9. Azogrenadin S (III, a, 3); 105; Mol. Gew. 509,2 (Azosäurerot B, SB, L; Sorbinrot; Wollrot SB, SG; Biebricher Säurerot B; Echtsäurerot B). Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: pH 2,0—11,5 stark zur Anode, etwas schwächer bei pH 2,0, mit mittleren (hohe C_H) und großen Steighöhen. Löslich-

keit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: Praktisch unlöslich, nur bei pH 2,0—4,6 eine ganz geringe Spur in der organischen Phase. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—8,0 gute Vakuolenfärbung, über pH 9,5 nur noch einzelne Zellen gefärbt. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* und *Phil.* gute Vakuolenfärbung.

10. Benzoblau RW (III, b, 3); 507; Mol. Gew. 773,3 (Chicagoblau RW, Diaminblau RW, Diazoblau 3R, Directblau RW, Azidinblau). Farbton: Bei allen pH-Werten blau. Wanderung: pH 2,0—11,4 stark zur Anode mit niedrigen (hohe C_H) und mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 der kleinere Teil, pH 8,0—10,0 nur in Spuren, pH 11,5 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma in den äußeren Zellreihen blau gefärbt, in der Blattstückmitte farblos; pH 3,1—11,4 lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* und *Phil.* bleiben farblos.

11. Benzoviolett O (III, b, 4); 397; Mol. Gew. 736,4 (Oxaminviolett, Naphtaminviolett BE, Directviolett O). Farbton: pH 2,0 blauviolett, pH 3,1—11,5 rotviolett. Wanderung: eindeutig zur Anode mit niedrigen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—3,1 organische Phase färbt sich hellrot, wässerige Phase wird farblos, aber es entsteht in ihr ein violetter, flockiger Niederschlag; pH 4,6—6,8 wie vorher, aber die wässerige Phase ist außerdem diffus hellviolett gefärbt; pH 8 organische Phase hellrot, wässerige Phase dunkelviolett; bei pH 10,0 organische Phase nur noch rosa und bei pH 11,5 farblos. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, die äußeren Zellreihen mit roter Kern- und Cytoplasmafärbung; pH 3,1—11,5 einzelne Epidermis- und Mesophyllzellen, besonders längs der Leitbündel, mit schwach roter Vakuolenfärbung. Mit fallender C_H nimmt die Färbungsintensität ab. In dest. Wasser gelöst, konnte an *Chrys. Malope grandiflora* und *Oenothera biennis* keine Farbstoffaufnahme beobachtet werden, die Mesophyllzellen von *Phil.* speicherten aber den Farbstoff mit rotem Farbton in der Vakuole.

12. Berlinerblau, löslich (IX, 1); 1436; Mol. Gew. 860,9. Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode mit mittlerer Steighöhe. Mit Berlinerblau konnte an *Phil.* und *Chrys.* keine Vitalfärbung erzielt werden.

13. Boraxcarmin (X, 1); ?; Mol. Gew. ?. Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode mit großer Steighöhe. Löslichkeit: Chloroform und Chloroform + Diamylamin: nicht löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* nehmen den Farbstoff nicht auf.

14. Bordeaux R (III, a, 4); 123; Mol. Gew. 502,2 (—G, BL, B; Cerasin R; Echtrot B, P extra, BN, BLX). Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: Zur Anode mit großen Steighöhen, bei pH 2,0 und 11,4 Steighöhen etwas geringer. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin; pH 2,0—6,8 fast quantitativ mit rotem Farbton, pH 8,0 der größere Teil, pH 9,9 im Verhältnis 1 : 1, pH 11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Matr.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—11,4 gute Vakuolenfärbung in Epidermen und Mesophyll. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* Vakuolen der Epidermis- und Mesophyllzellen gut gefärbt.

15. Brillantorange R (III, a, 5); 98; Mol. Gew. 378,2 (Scharlach GR, R; Xylidinorange 2R; Orange N, A extra, R, L, LR, LRR; Ponceau 2G, Xylidinscharlach). Farbton: Bei allen pH-Werten rotorange. Wanderung: Eindeutig

zur Anode, mit mittleren (hohe C_H) und größeren Steighöhen. Bei pH 2,0 ist der Unterschied der Steighöhen in den als Anode bzw. Kathode dienenden Filtrierpapierstreifen geringer. Löslichkeit: Chloroform: nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: Bei allen pH-Werten ist der größere Teil (etwa 3:1) in der organischen Phase mit gelborangenem Farbton löslich. Farbton der wässerigen Phase: rotorange. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rotgelb gefärbt. pH 3,1 schwache Vakuolenfärbung in Epidermen und Mesophyll; pH 4,5—11,2 Vakuolenfärbung stärker. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* gute Vakuolenfärbung in Epidermen und besonders im Mesophyll mit rotgelbem Farbton. *Chrys.* gute Vakuolenfärbung, besonders in den Epidermen mit rotem Farbton, Mesophyll nur schwach gefärbt.

16. Chicagoblau B (III, b, 5); 509; Mol. Gew. 788,4 (Diaminblau CB). Farbton: Bei allen pH-Werten blau. Wanderung: Eindeutig zur Anode mit sehr niedrigen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 der größte Teil (3:1) mit blauem Farbton; pH 8,0 der größere Teil (2:1); pH 10,0 im Verhältnis 1:1; pH 11,4 nicht löslich. Von pH 2,0—10,0 haben sich nach dem Ausschütteln in der wässerigen Phase noch blaue Farbstoffflocken gebildet. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, in den äußersten Zellreihen blaue Kern- und Cytoplasmafärbung; pH 3,1—11,4 alles farblos, manchmal zeigen einzelne Wundrandzellen eine schwach rötliche Vakuolenfärbung. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* und *Phil.* auch hier alles farblos mit Ausnahme einzelner Schnittrandzellen, die eine schwache Vakuolenfärbung zeigen.

17. Columbiablau G (III, b, 5); 462; Mol. Gew. 843,4 (Benzorotblau G, Diaminblau LG). Farbton: Bei allen pH-Werten violettblau. Wanderung: Eindeutig zur Anode mit niedrigen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 der kleinere Teil mit blauviolettem Farbton; pH 6,8—8,0 der größere Teil; pH 10,0 nur Spuren; pH 11,4 nicht löslich. Vitalfärbung: *Anacyclus Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma der äußeren Zellreihen blau gefärbt; pH 3,1—11,4 Zellen lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* alles farblos, auch nach 30 Stunden Aufenthalt in der Farblösung sind die Zellen noch normal lebend und farblos. In einigen Fällen scheinen die Leukoplasten sich etwas zu färben, doch muß diese Beobachtung noch eingehender untersucht werden.

18. Congocorinth (X, 2); ?; Mol. Gew. ?. Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode mit niedriger Steighöhe. Löslichkeit: Chloroform: nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: Spuren löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* alles farblos, auch nach 64-stündigem Aufenthalt in der Farblösung haben die noch vollkommen gesunden Zellen keinen Farbstoff aufgenommen.

19. Congorot (III, b, 7); 360; Mol. Gew. 696,4 (Baumwollrot B, 4B, A, C; Azidinrot C). Farbton: pH 2,0 blau, Farbstoff fällt in kleinen blauen Flocken aus; pH 3,1 blauviolett; pH 4,6—10,0 bräunliches karminrot; pH 11,4 rot. Wanderung: pH 2,0 keine eindeutige Wanderung; pH 3,1—11,4 zur Anode mit niedrigen (hohe C_H) bis mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 etwas mit gelbrotem Farbton; pH 3,1—10,0 nur Spuren; pH 11,4 gar nicht löslich. In pH 2,0—3,1 färbt sich nach dem Ausschütteln mit Diamylamin-haltigen Lösungsmitteln die wässerige Phase rot. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma der

äußeren Zellreihen rot gefärbt; pH 3,1—11,4 lebend, mit Ausnahme der Membranen alles farblos. Die Membranen der Mesophyllzellen sind rot gefärbt, besonders stark bei pH 11,4. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* nur die Membranen gefärbt.

20. Corallin, rotes (IV, 2); 844; Mol. Gew. ? (Aurin R, Paeonine). Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode. Löslichkeit: Chloroform: nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: Der größere Teil mit ziegelrotem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Phil.* nach 15 Stunden tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt. *Chrys.* nur einige Schnittrandzellen mit schwacher Vakuolenfärbung. Im UV-Licht leuchten nur die Membranen stark gelb.

21. Cyanol (IV, 3); 828; Mol. Gew. 554,4 (Säureblau 6 G). Farbton: pH 2,1 blaugrün; über pH 3,4 blau. Wanderung: Bei allen pH-Werten stark zur Anode mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,1 etwas; pH 3,4—9,0 nur geringe Spuren; pH 11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,1 alles tot, Kerne und Cytoplasma blau gefärbt, pH 3,4—11,4 gute Vakuolenfärbung. In dest. Wasser gelöst, konnte bei Blumenblättern von 151 verschiedenen Arten Vakuolenfärbung erzielt werden.

22. Echtrot A (III, a, 6); 206; Mol. Gew. 400,2 (Brillantechtrot G, Neutralrot R, Cerasin, Orcellin Nr. 4). Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: Bei allen pH-Werten zur Anode mit mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—11,4 der größte Teil ungefähr im Verhältnis 4:1 mit rotem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1 einzelne Zellen mit schwacher Vakuolenfärbung, Blattstücke aber mit stark gefärbtem Schleim umgeben; pH 5,4 Vakuolen der Epidermen mehr oder weniger gut gefärbt. Auch hier noch etwas Schleimbildung, aber bedeutend weniger als bei pH 3,1; pH 6,9—11,3 gute Vakuolenfärbung, keine Schleimbildung. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* gute Vakuolenfärbung in den Epidermen und besonders im Mesophyll; *Chrys.* gute Vakuolenfärbung in den Epidermen, Mesophyll nur schwach gefärbt.

23. Echtsäureblau B (IV, 4); 825; Mol. Gew. 575,3 (Intensivblau). Farbton: Bei allen pH-Werten blauviolett. Wanderung: pH 2,0—11,3 zur Anode mit großen Steighöhen, nur bei pH 2,0 weniger. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 im Verhältnis 1:1; pH 3,1—11,3 mit fallender C_H immer weniger bis zum Verhältnis 1:2 zugunsten der wässerigen Phase mit rein blauem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma blau gefärbt; pH 3,1 lebende Zellen farblos; pH 4,5—9,5 schwache Vakuolenfärbung, die mit fallender C_H immer blasser wird; bei pH 11,3 nur noch einzelne Zellen schwach gefärbt. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* Mesophyll; *Chrys.* Epidermen gefärbt.

24. Eosin bläulich (V, b, 1); 890; Mol. Gew. 829,5. Farbton: pH 2,1—3,9 gelb; pH 4,8—11,3 orange; bei pH 2,1 fällt der Farbstoff aus. Wanderung: pH 2,1 ganz schwach zur Anode; pH 3,9—11,3 stark zur Anode mit mittleren (hohe C_H) bis großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,1 unter völligem Farbverlust und Erlöschen der Fluoreszenz quantitativ; pH 3,9 der größte Teil; pH 4,8 im Verhältnis 1:1; pH 5,8 der kleinere Teil; pH 7,0 in geringen Spuren; über pH 9,0 nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,1—3,9 quantitativ mit ziegelrotem Farbton und gelber Fluoreszenz; pH 4,8—7,0 der größere Teil; pH 9,6 im Verhältnis 1:1; pH 11,3 etwas löslich. Chloroform + Ölsäure: pH 2,1—9,6 beide

Phasen entfärben sich unter Verlust der Fluoreszenz; pH 11,3 wässerige Phase bleibt schwach gelb gefärbt und fluoresziert stark grünlich-gelb. Vitalfärbung: Oberepidermis von *Allium cepa* nach 15 Minuten: pH 2,1—4,8 starke Kern- und Cytoplasmafärbung, Vakuolenkontraktion; pH 5,8 schwache Färbung, keine Vakuolenkontraktion mehr; pH 7,0 nur noch im UV-Licht sichtbare Cytoplasmafärbung; über pH 9,0 alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* nach 2 Stunden sind nur die Vakuolen der Mesophyllzellen längs der Leitbündel gefärbt, dann färben sich auch vom Schnittrand her die Kerne und das Cytoplasma der übrigen Zellen, aber zunächst nur in der Nähe des Schnittrandes, während die Leitbündelscheiden im ganzen Blattstück gefärbt sind. Nach Übertragung dieser gefärbten Blattstücke in farblose Pufferlösung mit pH 10 sind die Zellen nach 2 Stunden wieder völlig entfärbt.

25. Eosin W gelbl. (V, b, 2); 881; Mol.Gew. 832,0. Farbton: pH 2,0—11,4 orange, bei pH 2,0 fällt der Farbstoff sofort aus. Wanderung: pH 2,0 ganz schwach zur Anode; pH 3,1—11,4 stark zur Anode mit mittleren (hohe C_H) bis großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0 quantitativ unter Farbverlust; pH 3,1—4,6 der kleinere Teil; pH 6,8—11,4 nicht mehr löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—3,1 quantitativ mit gelbrotem Farbton; pH 4,6—6,8 fast quantitativ; pH 8,0—9,9 im Verhältnis 1:1; pH 11,4 der kleinere Teil löslich. Vitalfärbung: Oberepidermis von *Allium cepa* nach 15 Minuten: pH 2,1 alles farblos (Farbstoff vollkommen ausgefallen); pH 3,1—4,6 gute Kern- und Cytoplasmafärbung mit Vakuolenkontraktion; über pH 6,8 alles farblos. *Chrys.* nach 4—5 Stunden: pH 2,1 alles farblos; pH 3,1—9,9 Kern- und Cytoplasmafärbung, die mit abnehmender C_H schwächer wird, aber selbst bei pH 11,4 noch ganz schwache Kern- und Cytoplasmafärbung.

26. Erythrosin (V, b, 3); 886; Mol.Gew. 627,9. Farbton: pH 2,0—11,3 rot, bei pH 2,0 fällt der Farbstoff aus. Wanderung: pH 2,0 ganz schwach zur Anode; pH 3,1—11,4 stark zur Anode, mit mittleren (hohe C_H) bis großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0 quantitativ unter Farbverlust löslich; ob bei den anderen pH-Werten auch Farbstoff in das Chloroform geht, läßt sich schwer entscheiden, da sich die Farbintensität der wässerigen Phase kaum ändert. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 quantitativ mit rotem Farbton; pH 3,1—11,3 der größere Teil, und zwar mit zunehmendem pH etwas weniger löslich. Vitalfärbung: Oberepidermis von *Allium cepa* nach 15 Minuten: pH 2,0 alles farblos (Farbstoff ausgefallen); pH 3,1—5,0 starke Kern- und Cytoplasmafärbung, die Kerne schwellen an, Vakuolenkontraktion; pH 7,0 schwache Kern- und Cytoplasmafärbung; über pH 9,1 nichts mehr gefärbt. *Chrys.* nach 2 Stunden: pH 2,0 alles farblos; pH 3,1—11,3 Kerne und Cytoplasma gefärbt, besonders in den Mesophyllzellen. Mit abnehmender C_H wird die Färbung schwächer.

27. Fluoresceïn R (V, b, 4); 880; Mol.Gew. 332,1. Farbton: pH 2,0—11,4 gelb mit grüner Fluoreszenz, bei pH 2,0 bildet sich ein Niederschlag, der sich aber nach Zusatz weiterer Salzsäure wieder auflöst. Wanderung: pH 2,0 nicht eindeutig; pH 3,1—11,4 zur Anode, bei pH 3,1—4,6 mit mittleren, über pH 6,8 mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 der größte Teil; pH 3,1—6,8 ein Teil mit gelbem Farbton; über pH 8,0 nicht mehr löslich. Vitalfärbung: Oberepidermis von *Allium cepa* nach 15 Minuten: pH 2,0 Kerne und Cytoplasma gelb gefärbt mit Vakuolenkontraktion, im UV-Licht stark grün fluoreszierend; pH 3,1—11,4 nur Wundrandzellen mit schwacher gelber Kern- und Cytoplasmafärbung, Vakuolen-

kontraktion. Auch im UV-Licht fluoreszieren nur die Kerne und das Cytoplasma der Wundrandzellen, während die übrigen Zellen eine Membranfluoreszenz zeigen. Nach 22stündigem Aufenthalt in den Farblösungen: pH 2,0 Zellen tot, Membranen, Cytoplasma und im Kern das Karyotingerüst fluoreszieren, pH 3,1—4,6 Zellen lebend mit Plasmaströmung und Vakuolenkontraktion, Kerne und Cytoplasma fluoreszieren stark, in den Wundrandzellen auch die Vakuolen, die Membranen sind farblos; pH 6,8 nur noch Zellen mit starker Vakuolenkontraktion zeigen gute Kern- und Plasmafluoreszenz, einige Zellen mit guter Vakuolenfärbung, der größte Teil der Zellen besitzt keine Fluoreszenz; pH 8,0—11,4 die meisten Zellen fluoreszieren nicht, nur einige Wundrandzellen mit starker Vakuolenfluoreszenz. Blumenblätter von *Anacyclus Pyrethrum:* Nur bei pH 3,1 in den Epidermen Kernfluoreszenz, bei den anderen pH-Werten keine einwandfreie Entscheidung möglich. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* in allen Zellen gute Kern- und Cytoplasmafluoreszenz.

28. Heliotrop 2B (VI, 2); 960; Mol.Gew. 434,7 (Amethystviolett, Irisviolett). Farbton: Bei allen pH-Werten rotviolett. Wanderung: pH 2,0—11,4 zur Anode mit niedrigen (hohe C_H) und mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 der größere Teil mit weinrotem Farbton; pH 6,8—8,0 im Verhältnis 1:1; pH 9,9 der kleinere Teil; pH 11,4 nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma violett gefärbt; pH 3,1—11,4 in den Zellen des Mesophylls Farbstoff in blauen Krümeln ausgefallen, Epidermiszellen zum Teil mit schwacher diffuser Vakuolenfärbung. Nach Zugabe von 1 vol. mol. Traubenzucker oder stärkerer Beleuchtung oder kurze Zeit nach der Abdeckung der gefärbten Blattstücke mit dem Deckglas lösen sich die Farbstoffkrümel rasch auf, und die Färbung wird diffus. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* schwache Vakuolenfärbung in den Mesophyllzellen.

29. Indigocarmin (VIII, 1); 1309; Mol. Gew. 466,2 (Indigodisulfosaures Natrium, Indigoextrakt, Sächsischblau). Farbton: Bei allen pH-Werten blau. Wanderung: pH 2,0—11,4 zur Anode mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 in geringen Spuren; pH 8,0—11,4 nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma gefärbt; pH 3,1—7,0 Vakuolenfärbung in Mesophyll und Epidermen; pH 9,0 nur noch Mesophyllzellen längs der Leitbündel gefärbt; über pH 10,0 alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* gute Vakuolenfärbung.

30. Indanthrenblau BCS (VII, 2); 1237; Mol. Gew. 545,5. Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode mit niedriger Steighöhe. Löslichkeit: Chloroform: unlöslich. Chloroform + Diamylamin: Spur löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* bleiben völlig farblos.

31. Indanthrenrot 5 GK (VII, 3); 1218; Mol. Gew. 446,2. Ist so schwer wasserlöslich, daß keine einwandfreien Ergebnisse erzielt werden konnten.

32. Kalium-Fluorescein (V, b, 5); 880; Mol. Gew. 370,2. Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode. Löslichkeit: Chloroform: unlöslich. Chloroform + Diamylamin: zum Teil löslich. Vitalfärbung: *Phil.* Epidermiszellen zeigen Kern- und Cytoplasmafärbung, Mesophyllzellen dagegen Vakuolenfluoreszenz. Über den Einfluß der C_H vgl. STRUGGER (1938).

33. Lichtgrün SF (IV, 5); 763; Mol. Gew. 764,4 (Säuregrün). Farbton: pH 2,1 hellgrün; pH 3,1—6,5 dunkelgrün; pH 8,4 hellgrün; über pH 10,0 blaßgrün. Wanderung: Bei allen pH-Werten zur Anode mit großen Steighöhen.

Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,1—8,0 etwas unter baldiger Entfärbung löslich; über pH 9,0 unlöslich. Vitalfärbung: *Phil.*, *Chrys.* und *Oenothera biennis*: Bei keinem pH-Wert konnte eine vitale Aufnahme des Lichtgrüns beobachtet werden. Bei pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma grün gefärbt. In dest. Wasser gelöst: alle geprüften Zellen farblos. Versuche mit der Transpirationsmethode nach KÜSTER (1912) mit *Impatiens parviflora-* und *I. noli tangere*-Sprossen blieben auch ohne Erfolg. Nur die Membranen der Gefäße waren stärker gefärbt.

34. Metanilgelb Ia (III, a, 7); 169; Mol. Gew. 375,2 (Tropaeolin G, Citronin R, Orange MN, MNO). Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode mit größerer Steighöhe. Löslichkeit: Chloroform: Unlöslich. Chloroform + Diamylamin: Der größere Teil mit gelbem Farbton löslich. Vitalfärbung: Farbstoff ist so stark giftig, daß keine einwandfreie Vitalfärbung erzielt werden konnte. Zellen starben sofort ab (vgl. auch COLLANDER 1921, S. 377).

35. Methylblau (IV, 6); 815; Mol. Gew. 799,4 (Baumwollblau, Reinblau BSI, Diphenylaminblau). Farbton: pH 2,0—4,6 dunkelblau; pH 6,8—8,0 etwas helleres Blau; pH 9,9 blaugrün mit blauen Flocken; pH 11,4 schmutzig-olivgrün, klare Lösung. Wanderung: Stark zur Anode mit sehr großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: Bei allen pH-Werten unlöslich, aber nach 2—3 Stunden hat sich unter dem Einfluß des Diamylamins die wässerige Phase entfärbt. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, in sämtlichen Zellen Kerne und Cytoplasma blau gefärbt; pH 3,1—11,4 Zellen lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* farblos.

36. Methylorange (III, a, 8); 176; Mol. Gew. 327,2 (Helianthin, Orange III, Goldorange MP, Tropaeolin D). Farbton: pH 2,0—4,0 rot, Farbstoff fällt zum Teil aus; pH 4,7—11,0 orange. Wanderung: pH 2,0—11,0 zur Anode mit mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten etwas mit gelbem Farbton löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—7,5 der größte Teil; pH 8,5—9,9 der größere Teil; pH 11,0 der kleinere Teil mit gelb-orangenem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma gefärbt, bei *Phil.* mit gelbem und bei *Chrys.* mit rotem Farbton; pH 3,4—8,0 starke Vakuolenfärbung, bei *Phil.* gelb und bei *Chrys.* rot; pH 9,5 Vakuolenfärbung jetzt auch bei *Chrys.* mit gelbem Farbton. Wahrscheinlich dringt das in dem Puffergemisch vorhandene tertiäre Kaliumphosphat (K_3PO_4) ein und bedingt eine Aziditätsverschiebung. Über pH 10,5 nur noch einzelne Zellen mit schwacher gelber Vakuolenfärbung. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* starke gelbrote und *Chrys.* starke rote Vakuolenfärbung in den Epidermen.

37. Methylrot, wasserlösliches Natriumsalz (III, a, 9); 250; Mol. Gew. 291,1. Farbton: pH 2,1—5,5 rot, Farbstoff fällt zum Teil aus; über pH 7,0 gelb. Wanderung: pH 2,0 nicht eindeutig; pH 3,3—11,0 zur Anode mit mittleren bis größeren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,1—5,5 quantitativ orangenfarbig; pH 6.5 der größte Teil; pH 8,0 im Verhältnis 1 : 1; über pH 9,5 der kleinere Teil. Chloroform + Diamylamin: Ein Zusatz von Diamylamin bedingt keine Änderung der Löslichkeit. Chloroform + Ölsäure: Ölsäure begünstigt dagegen die Löslichkeit in der organischen Phase. Vitalfärbung: Zum Unterschied von den übrigen sauren Farbstoffen sind sofort nach der Infiltration alle Zellen des Blumenblattes intensiv gefärbt (Vakuolenfärbung). *Chrys.* und *Phil.* pH 2,1—6,5 starke Vakuolenfärbung mit violettem Farbton in beiden Arten; über pH 7,5 nur noch

schwache Vakuolenfärbung in einzelnen Zellen. *Allium cepa*, Oberepidermis der Schuppenblätter: pH 2,1—6,5 gelbe Kern- und Cytoplasmafärbung, Unterepidermis mit violettroter Vakuolenfärbung. Über pH 7,5 O. E. farblos, U. E. nur noch einige Wundrandzellen mit schwacher Vakuolenfärbung. Zum Unterschied von den anderen sauren Farbstoffen färben sich die Wundrandzellen stärker als die normalen Zellen. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* sämtliche Zellen zeigen sofort starke Vakuolenfärbung. Nach Übertragung der gefärbten Blattstücke in farblose alkalische Pufferlösungen (pH 8,0—11,5) entfärben sich die Zellen rasch.

38. Naphtolgrün B (I, 1); 5; Mol. Gew. 604,0. Farbton: pH 2,0 hellgrün; pH 3,1—11,4 grün. Wanderung: pH 2,0—11,4 stark zur Anode mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 der größte Teil unter Farbverlust; pH 3,1—4,6 im Verhältnis 1 : 1; pH 6,8—11,4 nicht löslich. Vitalfärbung: *Matr.* und *Anacyclus Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma grün gefärbt; pH 3,1—11,4 Zellen lebend, vollkommen farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* auch nach 30 Stunden noch alles farblos.

39. Nigrosin GGA, wasserlöslich (VI, 3); 986; Mol. Gew. ? (Stahlgrau, Silbergrau, Bengalgrau, Indulinschwarz, Echtblauschwarz). Farbton: Bei allen pH-Werten blauschwarz. Wanderung: Stark zur Anode mit großen Steighöhen, bei pH 2,0 etwas schwächer. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—3,1 etwas mit blauem Farbton; pH 4,6—9,9 nur Spuren; pH 11,4 nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma in den Randzellen blauschwarz, in der Blattmitte blaugrün gefärbt; pH 3,1 Mesophyllzellen längs der Leitbündel mit hell-graublauer Vakuolenfärbung; pH 4,6—11,4 auch die übrigen Mesophyll- und Epidermiszellen mit schwach grünblauer Vakuolenfärbung. In dest. Wasser gelöst: *Chrys.* und *Phil.* schwache graublaue Vakuolenfärbung in der Leitbündelscheide.

40. Orange G (III, a, 10); 39; Mol. Gew. 452,2 (Patentorange, Kristallorange GG, Säureorange GGO, GG krist.). Farbton: pH 2,1—8,0 gelborange; pH 9,9—11,0 rotorange. Wanderung: Stark zur Anode mit sehr großen Steighöhen bei allen pH-Werten. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—3,1 der größere Teil; pH 4,6 im Verhältnis 1 : 1; pH 6,8—9,9 der kleinere Teil; pH 11,4 nicht löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* pH 2,1 alles tot, Kerne sehr stark gelb gefärbt; pH 4,0—7,0 gute Vakuolenfärbung; pH 8,0—11,0 Vakuolenfärbung schwächer werdend. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* starke Vakuolenfärbung im Mesophyll, Epidermen farblos; *Chrys.* starke Vakuolenfärbung in Epidermen und Mesophyll.

41. Orange IV (III, a, 11); 179; Mol. Gew. 375,2 (—N, GS; Neugelb extra, Säuregelb D; Tropaeolin OO; Citronin V doppelt). Farbton: pH 2,0 braun, Farbstoff fällt aus; pH 3,1 rotorange; pH 4,6—11,4 gelborange. Die benutzte gesättigte Lösung ist von geringerer Konzentration als 0,1%. Wanderung: Bei allen pH-Werten zur Anode mit mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0 quantitativ mit goldgelbem Farbton; pH 3,1—4,6 fast quantitativ; pH 6,8—8,0 der größere Teil; pH 10,0—11,4 im Verhältnis 1 : 1 löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Matr.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma gelb gefärbt; pH 3,1—11,4 gute Vakuolenfärbung, in den Epidermen zum Teil mit tropfigen Entmischungen. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* Vakuolenfärbung.

42. Palatinscharlach A (III, a, 12); 94; Mol.Gew. 480,2 (Brillantwollscharlach PG). Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: Zur Anode, mit mittleren (pH 2,0) und großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 der größte Teil; pH 6,8 der größere Teil; pH 8,0—9,9 im Verhältnis 1:1; pH 11,4 der kleinere Teil löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—11,4 Vakuolenfärbung; bei pH 3,1 und über pH 8,0 etwas schwächer. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* starke Vakuolenfärbung.

43. Palatinscharlach 3R (III, a, 13); 129; Mol.Gew. 502,2. Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: Zur Anode mit mittleren (hohe C_H) bis großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 fast quantitativ mit orangerotem Farbton; pH 6,8 im Verhältnis 1:1; pH 8,0—9,9 der kleinere Teil; pH 11,4 nicht löslich Vitalfärbung: *Anacyclus Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—6,8 starke Vakuolenfärbung in Epidermen und Mesophyll; pH 8,0—9,9 im Mesophyll noch gute, in den Epidermen nur noch schwache Vakuolenfärbung; pH 11,4 schwache Färbung. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* starke Vakuolenfärbung.

44. Patentblau V (IV, 7); 826; Mol.Gew. 1339,0 (Neptunblau BG, BGX; Brillantsäureblau V; Echtsäureblau X; Säureblau G, V; Azurblau V). Farbton: pH 2,0 grün; pH 3,1 grünblau; pH 4,6—11,4 blau. Wanderung: Zur Anode mit großen Steighöhen, bei pH 2,0 etwas schwächer. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—9,9 etwa im Verhältnis 1:1, und zwar bei höherer C_H etwas zugunsten der organischen Phase und bei niedrigerer C_H etwas zugunsten der wässerigen Phase; pH 11,4 der kleinere Teil mit blauem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma blau gefärbt, pH 3,1—11,4 sehr gute Vakuolenfärbung in Mesophyll und Epidermen. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* sehr gute Vakuolenfärbung in allen Zellen.

45. Phloxin BBN (V, b, 6); 890; Mol.Gew. 829,5 (Eosin bläulich?). Farbton: pH 2,0 orangerot, fällt allmählich aus; pH 3,1—11,4 rot, mit fallender C_H nimmt die Farbtiefe zu. Wanderung: pH 2,0 schwach zur Anode; pH 3,1—11,4 zur Anode mit mittleren bis großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Die organische Phase bleibt farblos, aber die wässerige Phase entfärbt sich bei pH 2,0 fast vollkommen; bei pH 3,1 um ½; bei pH 4,6 um ¼; bei pH 6,8—11,4 scheint die Farbintensität der wässerigen Phase sich nach dem Ausschütteln nicht geändert zu haben. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 quantitativ; pH 6,8—9,9 der größte Teil, mit fallender C_H weniger; pH 11,4 im Verhältnis 1:1 löslich. Olivenöl + Diamylamin: In dest. Wasser gelöster Farbstoff ist stark löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* nach 3 Stunden: pH 2,0 alles tot, farblos (Farbstoff ausgefallen); pH 3,1—9,9 gute Kern- und Cytoplasmafärbung; pH 11,4 nur noch einzelne Zellen mit ganz schwacher Färbung. — Oberepidermis von *Allium cepa* nach 15 Minuten: pH 2,0 alles farblos; pH 3,1—4,6 starke Kern- und Cytoplasmafärbung mit Vakuolenkontraktion; pH 6,8 nur noch schwach gefärbt, zum Teil noch starke Vakuolenkontraktion; pH 8,0—11,4 alles farblos, keine Vakuolenkontraktion. In dest. Wasser gelöst: Oberepidermis von *Allium:* starke Kern- und Cytoplasmafärbung, im UV-Licht schwache gelbe Fluoreszenz.

46. Picrocarmin (X, 3); ?; Mol.Gew. ?. Nur in dest. Wasser gelöst untersucht. Wanderung: Zur Anode mit großer Steighöhe. Löslichkeit: Chloroform:

Unlöslich. Chloroform + Diamylamin: Der kleinere Teil mit gelbem Farbton löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* nach 16 Stunden alles farblos.

47. Ponceau, wahrscheinlich: (III, a, 14); 95; Mol.Gew. 480,1 (?). Farbton: Bei allen pH-Werten rot. Wanderung: pH 2,0—11,4 stark zur Anode mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 fast quantitativ; pH 6,8 im Verhältnis 1:1; pH 8,0 der kleinere Teil; pH 9,9 etwas; pH 11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—9,9 gute Vakuolenfärbung in Mesophyll und Epidermen, über pH 8,0 etwas schwächer; pH 11,4 nur einzelne Zellen mit schwacher Vakuolenfärbung. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* gute Vakuolenfärbung. — Aus der Lösung mit pH 7,0 wurden gut gefärbte Blattstücke in farblose Pufferlösung mit entsprechendem pH übertragen. Nach 24 Stunden war noch keine Abnahme der Farbintensität zu beobachten. Darauf kamen die Blattstücke in farblose Pufferlösung mit pH 11,0. Nach 4 Tagen war auch in diesem Puffergemisch der größte Teil der Zellen stark gefärbt und zeigte in 1 vol. mol. Traubenzucker normale Plasmolyse. Nach im ganzen 6 Tagen wiesen die meisten Zellen noch ein ganz normales Verhalten auf!

48. Säurefuchsin (IV, 8); 800; Mol.Gew. 585,3 (Fuchsin S, SIII, SN, SS, ST; Rubin S; Säurerubin). Außer Säurefuchsin wurde auch Rubin S benutzt, zwischen beiden Fabrikaten konnte kein Unterschied festgestellt werden. Farbton: pH 2,0 rot; pH 3,1—8,0 mit fallender C_H immer heller werdend; pH 9,9 nur noch blaß-rot; pH 11,4 schwach gelb. Wanderung: Bei allen pH-Werten stark zur Anode mit sehr großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0—11,4 unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 der kleinere Teil mit karminrotem Farbton; pH 6,8 nur Spuren; pH 8,0—9,9 gar nicht löslich; pH 11,4 beide Phasen farblos. Nach 2—3 Stunden bei allen pH-Werten beide Phasen entfärbt. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Anacyclus Pyrethrum:* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—8,0 gute Vakuolenfärbung in Mesophyll und Epidermen; pH 9,9 nur Mesophyllzellen längs der Leitbündel gefärbt; pH 11,4 wie bei pH 9,9, aber in einem Stück von der Blattspitze noch starke rote Vakuolenfärbung. Die Farblösung ist bei diesem pH-Wert nur schwach gelb gefärbt. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Oenothera biennis:* Mesophyllzellen zeigen starke Vakuolenfärbung, Epidermen sind farblos.

49. Sulfonsäureblau B (III, a, 15): 248; Mol.Gew. 709,3 (Tolylblau SB, Brillanttuchblau III F, Sulfonblau BL, Neutralblau B, Wollblau B). Farbton: pH 2,0 blau; pH 3,1 blauviolett; pH 4,6—9,9 violett; pH 11,4 rotviolett. Wanderung: Stark zur Anode mit mittleren (pH 2,0) und großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 der kleinere Teil mit blauem Farbton; pH 6,8—8,0 etwas; pH 9,9—11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Matr.* und *Anacyclus Pyrethrum:* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma blau gefärbt; pH 3,1 lebend, alles farblos; pH 4,6 einige Mesophyllzellen längs der Leitbündel mit blauer Vakuolenfärbung; pH 6,8 fast alle Mesophyllzellen längs der Leitbündel gefärbt. Die Färbung wird in pH 8,0—9,9 noch stärker; bei pH 11,4 aber nur noch schwache Färbung. In dest. Wasser gelöst: *Phil.*, *Chrys.*, *Malope grandiflora* und *Oenothera biennis:* Nur bei *Phil.* sind die Vakuolen des Mesophylls schwach gefärbt. In den übrigen Blumenblättern zeigen die Zellen auch nach 30 Stunden Aufenthalt in der Farblösung keine Farbstoffaufnahme.

50. Sulforhodamin B (V, a, 1); 863; Mol.Gew. 580,4 (—B extra; Säurerot XB). Farbton: pH 2,0—11,5 rot. Wanderung: Bei allen pH-Werten zur Anode

mit mittleren (hohe C_H) und großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—9,9 im Verhältnis 1 : 1; pH 11,4 etwas weniger mit rotem Farbton und starker rötlich-gelber Fluoreszenz löslich. Vitalfärbung: *Phil.* und *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt: pH 3,1—8,0 gute Vakuolenfärbung in Mesophyll und Epidermen; pH 9,0—11,5 nur noch schwache Vakuolenfärbung in einzelnen Zellen, im UV-Licht zeigen aber noch ein Teil der farblos erscheinenden Zellen starke Fluoreszenz der Vakuolen. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* starke Vakuolenfärbung.

51. Sulforhodamin G (V, a, 2); ?; Mol. Gew. ?. Farbton: rosa, gelb fluoreszierend. Wanderung: Zur Anode mit mittleren (hohe C_H) und großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 der größere Teil unter Farbverlust aber Beibehaltung der Fluoreszenz; pH 8,0—11,4 der kleinere Teil löslich. Bei pH 2,0—9,9 bildet sich an der Phasengrenze ein violetter Niederschlag. Vitalfärbung: *Matr.* und *Anacyclus Pyrethrum:* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma stark rot gefärbt; pH 3,1—6,8 Vakuolenfärbung; pH 8,0—11,4 Vakuolenfärbung schwächer. Während die Vakuolen auch noch bei pH 11,4 im UV-Licht eine starke gelbe Fluoreszenz aufweisen, fluoreszieren die bei hoher C_H stark rot gefärbten toten Kerne und das Cytoplasma gar nicht oder nur ganz schwach gelblich. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* gute Vakuolenfärbung.

52. Thiazinrot R (III, a, 16); 277; Mol. Gew. 599, 3 (Rosanol 10 B; Benzoinechtrot AE). Farbton: pH 2,0—11,4 rot. Wanderung: Zur Anode mit niedrigen (hohe C_H) und mittleren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 fast quantitativ; pH 8,0 im Verhältnis 1 : 1; pH 9,9 der kleinere Teil; pH 11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* pH 2,0 alles tot. Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1 lebend, alles farblos; pH 4,6—11,4 einzelne Mesophyllzellen längs der Leitbündel mit schwacher Vakuolenfärbung, mit zunehmendem pH Intensität und Anzahl der gefärbten Zellen zunehmend. In dest. Wasser gelöst: *Phil., Chrys., Malope grandiflora, Oenothera biennis:* In *Phil.* schwache Vakuolenfärbung im Mesophyll, die anderen Blumenblätter auch nach 30stündigem Aufenthalt in der Farblösung vollkommen farblos.

53. Titangelb (X, 4); ?; Mol. Gew. ?. Wanderung: Zur Anode mit niedriger Steighöhe. Farbstoff ist im Wasser schwer löslich. An *Phil.* und *Chrys.* konnte keine Vitalfärbung erzielt werden.

54. Trypanblau (III, b, 8); 471; Mol. Gew. 960,6 (Diaminblau 3 B, Benzoblau 3 B, Congoblau 3 B, Azidinblau 3 B, Benzaminblau 3 B, Direktblau 3 B). Farbton: pH 2,0—11,4 blau. Wanderung: Stark zur Anode mit mittleren (hohe C_H) bis größeren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—9,9 zum kleineren Teil mit violettem Farbton; pH 11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung; *Chrys.* pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma blauviolett gefärbt; pH 3,1 lebend, alles farblos; pH 4,6—6,8 einzelne Zellen der Unterepidermis mit schwacher violetter Vakuolenfärbung; pH 8,0—11,4 alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil., Chrys., Malope grandiflora* und *Oenothera biennis:* In *Phil.* schwache Vakuolenfärbung im Mesophyll, zum Teil mit rötlichem Niederschlag. Die anderen Blumenblätter bleiben vollkommen farblos.

55. Trypanrot (III, b, 9); 434; Mol. Gew. 1002,5. Farbton: pH 2,0—11,4 rot. Wanderung: Stark zur Anode mit mittleren (hohe C_H) und größeren Steig-

höhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 etwas; pH 8,0—11,4 nicht löslich. Bei pH 2,0—6,8 tritt an der Phasengrenze ein roter Niederschlag auf. Vitalfärbung: *Anacyclus Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rot gefärbt; pH 3,1—11,4 lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* alles farblos.

56. Tuchrot B (III, b, 10); 543; Mol. Gew. 482,2. Farbton: pH 2,0 trübrot mit Niederschlag; pH 3,1—9,9 trüb-hellrot; pH 11,4 klar-rot. Wanderung: Schwach zur Anode, Steighöhe 0 bis ganz gering (Letzteres bei pH 11,4). Löslichkeit: Chloroform: pH 2,0 unlöslich; pH 3,1 Spur (rosa); pH 4,6—11,4 nicht löslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—11,4 fast quantitativ mit rotem Farbton löslich. In dest. Wasser gelöst: Olivenöl: etwas löslich. Olivenöl + Diamylamin: stark löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Anacyclus Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, die äußeren Zellreihen mit roter Kern- und Cytoplasmafärbung; pH 3,1—11,4 lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* alles farblos.

57. Tuchrot 3 GA (III, b, 11); 544; Mol. Gew. 481,3. Wanderung: Zur Anode, Steighöhe = 0. Farbstoff ist im Wasser schwer löslich. Eine Vitalfärbung konnte nicht erzielt werden.

58. Victoriaviolett 4 BS (III, a, 17); 103; Mol. Gew. 483.2 (Azowollblau, Säureviolett 4 BS). Farbton: pH 2,0 rot; pH 3,1 rotviolett; pH 4,6—8,0 violett; pH 9,9 violettrot; pH 11,4 rot aber etwas bräunlicher als bei pH 2,0. Wanderung: Stark zur Anode mit mittleren (hohe C_H) bis größeren Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich, Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 nur in geringen Spuren; pH 8,0—11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Chrys.* und *Anacyclus Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma rotviolett gefärbt; pH 3,1—6,8 Vakuolenfärbung im Mesophyll mit rotviolettem (*Anacyclus*) bzw. blauem (*Chrys.*), in den Epidermen mit blauem Farbton. Nach einer Plasmolyse mit 1 vol. mol. Traubenzucker tritt in den gefärbten Mesophyllzellen von *Anacyclus* Krümelbildung auf. pH 8,0—9,9 nur noch Mesophyllzellen längs der Leitbündel gefärbt; pH 11,4 alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* Vakuolen der Mesophyllzellen mit violettem (*Phil.*) bzw. blauem (*Chrys.*) und der Epidermiszellen mit blauem Farbton gefärbt.

59. Violamin R (V, a, 3); 871; Mol. Gew. 634,6 (Echtsäureviolett A 2 R, R, 3 RL; Säureviolett 4 R, 4 RN). Farbton: pH 2,0—11,4 karminrot. Wanderung: Stark zur Anode bei pH 2,0 mit mittlerer, sonst mit großen Steighöhen. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—4,6 geringe Spuren; pH 6,8—11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Cosmea bipinnata*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma violett gefärbt; pH 3,1—11,4 Epidermen und besonders Mesophyll mit guter Vakuolenfärbung, bei pH 11,4 etwas schwächer. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* gute Vakuolenfärbung.

60. Wasserblau (IV, 9); 816; Mol. Gew. 737,4 (Baumwollblau, Chinablau, Seidenblau, Lichtblau G, Marineblau V, Reinblau). Farbton: pH 2,0 dunkelblau; pH 3,1—9,9 immer heller werdend; pH 11,4 farblos. Wanderung: Stark zur Anode mit großen Steighöhen, bei pH 2,0 etwas schwächer. Löslichkeit: Chloroform: Bei allen pH-Werten unlöslich. Chloroform + Diamylamin: pH 2,0—6,8 geringe Spuren; pH 8,0—11,4 gar nicht löslich. Vitalfärbung: *Matr. Pyrethrum*: pH 2,0 alles tot, Kerne und Cytoplasma blau gefärbt; pH 3,1—11,4 lebend, alles farblos. In dest. Wasser gelöst: *Phil.* und *Chrys.* alles farblos.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Wie die Versuche ergeben, werden von den 60 untersuchten Farbstoffen z. B. von den Epidermiszellen der Strahlenblüten von *Chrysanthemum leucanthemum* 32 (einschließlich Metanilgelb Ia) nicht nur bis zum Konzentrationsausgleich aufgenommen, sondern auch gespeichert. Die Mesophyllzellen der Blumenblätter von *Philadelphus* speichern außer diesen 32 noch 6 weitere Farbstoffe.

In dem neutralen Chloroform sind die sauren Farbstoffe, mit Ausnahme von Angehörigen der Eosin-Gruppe, sowie von Methylrot, Methylorange, Alizaringelb GG und Anilingelb, nicht merklich löslich. Ein Zusatz der freien Base Diamylamin bedingt aber für eine ganze Anzahl der untersuchten sauren Farbstoffe (zumindestens bei hoher C_H) eine Löslichkeit in der organischen Phase. Wie aus den mit Alizarinrot SW, Chicagoblau B, Columbiablau G, Naphtolgrün B und Tuchrot B erhaltenen Versuchsergebnissen hervorgeht, werden diese, wenigstens bei bestimmten pH-Werten, in Chloroform + Diamylamin gut bzw. sogar stark löslichen Farbstoffe von den lebenden Blumenblattzellen kaum oder gar nicht aufgenommen. Daß die Zellulosewand hier keinen hemmenden Einfluß ausübt, beweisen die bei pH 2,0 beobachteten Ergebnisse. Die Farbstoffe werden von den toten Zellen sehr rasch aufgenommen und vom Zellinhalt bei dieser hohen Wasserstoffionenkonzentration stark adsorbiert. Auf der anderen Seite sind die Farbstoffe Azogrenadin S, Cyanol, Indigocarmin, Victoriaviolett 4BS und Violamin R in Chloroform + Diamylamin nur in Spuren bzw. gar nicht löslich. Sie werden aber von den Blumenblattzellen nicht nur aufgenommen, sondern auch gespeichert.

Im Vergleich mit den basischen zeigen die sauren Farbstoffe keine einwandfreie Parallele zwischen der Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln und der Aufnahme durch die gerbstofffreie lebende Zelle.

Wie Fig. 1 und 2 belegen, verhalten sich die basischen und die sauren Farbstoffe auch gegenüber den Wundrandzellen ganz verschieden. Während die Wundrandzellen basische Farbstoffe stark speichern, wie aus Fig. 1 für Neutralrot hervorgeht, zeichnen sie sich gegenüber den sauren Farbstoffen durch eine sehr geringe oder gar keine Aufnahmefähigkeit aus, wie Fig. 2 für Ponceau wiedergibt. Hier nehmen erst die vom Schnittrand entfernter liegenden Zellen den Farbstoff auf. Eine Ausnahme in dieser Beziehung macht außer den Oxyfluoronen sowie Anilin- und Alizaringelb das Methylrot, das ähnlich wie die basischen Farbstoffe gerade von den Wundrandzellen besonders reichlich gespeichert

wird. Methylrot verhält sich aber auch, abgesehen von seiner Wanderung im elektrischen Feld, in allen Punkten wie ein basischer Farbstoff (vgl. das Versuchsprotokoll auf S. 39, 40).

Ein weiterer Gegensatz zu den basischen Farbstoffen besteht in der verhältnismäßig geringen C_H-Abhängigkeit der Aufnahme saurer Farbstoffe durch die lebende Blumenblattzelle. Über einen großen pH-Bereich speicherten die Zellen gleich gut die Farbstoffe. Erst bei höherem pH war die Färbung schwächer, und in den meisten Fällen blieb höchstens in den stark alkalischen Puffern eine Färbung überhaupt ganz aus.

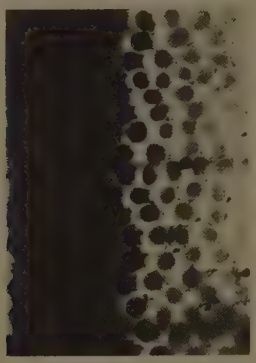


Fig. 1. Schnittrand (links im Bild) eines Blumenblattes von *Chrysanthemum leucanthemum* mit Neutralrot (1 : 10000 in Leitungswasser gelöst) gefärbt und in 1 vol. mol. Traubenzucker plasmolysiert. In den toten Schnittrandzellen sind alle Zellbestandteile, auch die Membranen, so stark gefärbt, daß der Schnittrand im Bild nur als undifferenzierte dunkele Zone erscheint. Die dann folgenden lebenden Zellen haben das Neutralrot sehr intensiv in den Vakuolen gespeichert. Die Vakuolenfärbung nimmt aber mit der Entfernung der Zellen vom Schnittrand sehr rasch an Stärke ab.

Fig. 2. Schnittrand (links im Bild) eines Blumenblattes von *Chrysanthemum leucanthemum* mit Ponceau (1 : 1000 in dest. Wasser gelöst) gefärbt und mit 1 vol. mol. Traubenzucker plasmolysiert. In den toten Schnittrandzellen sind alle Zellbestandteile ebenso wie die dann folgenden lebenden Zellen farblos. Die in dem plasmolysierten Protoplasten erkennbaren dunklen Körper (meist nur einer) sind gelbliche Entmischungstropfen des Zellsaftes, wie sie in den *Chrysanthemum*-Epidermen nach einer Plasmolyse manchmal erscheinen. — Je weiter die Zellen vom Schnittrand entfernt liegen, desto stärker speichern sie den Farbstoff diffus in der Vakuole.

Ob diese häufig auftretende C_H-Unabhängigkeit 1. auf die schwache Pufferung der benutzten Farbstofflösung einerseits und die starke Pufferung der Imbibitionsflüssigkeit der Membranen andererseits oder 2. auf die Eigenschaften der Farbstoffe bzw. des speichernden Zellinhaltes zurückzuführen ist, habe ich noch nicht einwandfrei klären können.

Für den ersten Punkt würde sprechen, daß die Blumenblattstücke in den stark alkalischen Farbstofflösungen nach 15 Stunden an den Schnitträndern eine viel

breitere Zone ungefärbter Zellen enthielten als bei den anderen pH-Werten. Besonders deutlich zeigten dieses Bild Blumenblattstücke von der Spitze. Da die Blumenblätter stark kutinisiert sind, kann der Farbstoff nur vom Schnittrand her in die Blätter eindringen, und die Spitzenstücke besitzen ja nur eine Schnittseite. In diesem Falle traten in den Blattstücken in den alkalischen Farbstofflösungen folgende Zonen auf: vom Schnittrand eine breite Zone ungefärbter Zellen, dann eine Zone mit schwach gefärbten Zellen, und an der Spitze starke Vakuolenfärbung.

Die starke Pufferung der Imbibitionsflüssigkeit der Membranen wird wohl von dem CO_2 der atmenden Zellen herrühren. Das CO_2 führt wahrscheinlich auch zu einer C_H-Verschiebung der infiltrierten Farbstofflösungen in den Interzellularen; denn die Blattspitzen oder die Mitte der Blattstücke mit zwei Schnitträndern waren häufig z. B. in Anilinblau auch bei pH 11,4 blau. Wie aus dem Versuchsprotokoll auf S. 32 hervorgeht, ist aber eine Anilinblaulösung mit pH 11,4 farblos und wird bei dieser C_H auch von keiner lebenden Zelle aufgenommen. Die Blaufärbung kann also nur von dem in den Interzellularen befindlichen Farbstoff herrühren. Daß eine Aziditätsverschiebung durch CO_2 in den Interzellularen tatsächlich stattfinden könnte, wäre bei der hohen Atmungsintensität von Blumenblättern nicht zu unwahrscheinlich.

Für die erste Erklärungsmöglichkeit der weitgehenden C_H-Unabhängigkeit der Vitalfärbung mit sauren Farbstoffen an Blumenblättern lassen sich auch die mit Eosin W gelblich und Erythrosin erhaltenen Befunde anführen (vgl. S. 37). Während die Kern- und Cytoplasmafärbung mit diesen Farbstoffen bei den Oberepidermen der Schuppenblätter von *Allium cepa* deutlich von der C_H der Außenlösung beeinflußt wurde, färbten sich dieselben Zellelemente in den Blumenblättern besonders mit Erythrosin auch noch bei pH 11,4; allerdings schwächer als bei niedrigerem pH.

Zur Stützung des zweiten Punktes können folgende Beobachtungen dienen: 1. Eine Erhöhung der Pufferkonzentration änderte nichts an den Ergebnissen. 2. In Fluoresceïn R (Oxyfluoronfarbstoff) zeigte zwar die Kern- und Plasmafärbung in den *Allium*-Epidermen eine C_H-Abhängigkeit, aber bei weitem nicht in demselben Maße die Vakuolenfärbung der Wundrandzellen. Auch bei pH 8,0—11,4 besaßen nach 22 Stunden noch einige Wundrandzellen eine starke Vakuolenfärbung (vgl. S. 37, 38). Das heißt aber, daß diese Wundrandzellen wahrscheinlich Stoffe gebildet haben, die eine große Affinität zu dem Farbstoff besitzen, so daß sie befähigt sind, aus einer Zustandsform der Farbstofflösung (hoher Dissoziationsgrad), bei der sonst keine Aufnahme mehr stattfindet, doch noch Farbstoff aufzunehmen. Es könnte sein, daß die Blumenblätter schon unter normalen Bedingungen dieselben Eigenschaften besitzen.

Weiter besteht die Möglichkeit, daß beide hier erörterten Gesichtspunkte nebeneinander eine Rolle spielen.

Entsprechend den Befunden Collanders (1921, S. 375) wird der einmal aufgenommene Farbstoff sehr stark festgehalten. Eine Übertragung von Zellen mit gefärbten Vakuolen in farblose stark alkalische Pufferlösungen führte auch bei solchen Farbstoffen, die bei dem hohen pH gar nicht oder nur sehr schlecht aufgenommen wurden, wie Ponceau, zu keiner deutlichen Entfärbung (vgl. S. 42). Ein Abblassen der Färbung in den farblosen Pufferlösungen mit pH 11,5 konnte nur bei solchen Farbstoffen beobachtet werden, die bei dieser niedrigen C_H wie Säurefuchsin ihre Farbe verlieren. In diesem Fall

ist aber die allmähliche Entfärbung der Zellen wohl nicht auf ein Austreten des Farbstoffes, sondern auf ein Eintreten des tertiären Phosphates zurückzuführen. Eine Ausnahme macht auch hier nur wieder das Methylrot. Die Übertragung der gefärbten Blattstücke in farblose Pufferlösungen mit pH 8,0—11,5 führte bald zu einer Entfärbung der Zellen (vgl. S. 40).

Im Vergleich mit den basischen Farbstoffen ist die sehr langsame Aufnahme der sauren Farbstoffe (mit Ausnahme der Oxyfluorone, des Anilin- und Alizaringelbs sowie des Methylrots) durch die lebende Zelle auffällig. Während bei den basischen Farbstoffen schon nach wenigen Minuten eine starke Färbung zu erzielen ist, zeigten die Zellen bei sauren Farbstoffen frühstens nach 2 Stunden eine leichte Anfärbung.

Für diesen Unterschied können folgende Faktoren verantwortlich gemacht werden:

1. Die Permeabilität, d. h. die Eigenschaften der Plasmagrenzflächen.
2. Die Eigenschaften des Farbstoffes wie Dissoziationsgrad, hydrolytische Spaltung, „Lipoid"-Löslichkeit.
3. Die Aufnahmefähigkeit der Zelle, d. h. der qualitative und quantitative Gehalt der Zelle an Stoffen, die zu dem Farbstoff bestimmte Affinitäten chemischer oder physikalischer Art besitzen, so daß es zu einer Aufnahme bzw., wenn diese Aufnahme über das Konzentrationsgleichgewicht hinausgeht, zu einer Speicherung kommen kann.

Zu Punkt 1: Wie an den basischen Farbstoffen gezeigt werden konnte (Drawert 1938, 39, 40), spielt 1. die Permeabilität der Plasmagrenzflächen für die Aufnahmegeschwindigkeit dieser Stoffe nur eine untergeordnete Rolle, und 2. ist die Lipoidlöslichkeit kein für die Permeierfähigkeit ausschlaggebender Faktor. Die Lipoidlöslichkeit kann aber die Aufnehmbarkeit eines basischen Farbstoffes bedingen. Die Lipoidlöslichkeit ist wiederum auch nicht der die Aufnehmbarkeit allein bestimmende Faktor, wie die Versuche mit Rhodamin S gezeigt haben (Drawert 1940, S. 179—183). Wenn bei dem Aufnahmevorgang der basischen Farbstoffe in meinen Versuchen die Permeabilität als hemmender Faktor in seltenen Fällen in Erscheinung trat, dann nur nach dem Ultrafilterprinzip Ruhlands (vgl. Drawert, 1940, S. 199).

Wird das unterschiedliche Verhalten der basischen und der sauren Farbstoffe in der Aufnahmegeschwindigkeit durch die Permeabilität bedingt, so müssen die sauren Farbstoffe eine viel geringere Dispersität als die basischen besitzen. Daß für das Permeiervermögen der sauren Farbstoffe die Lipoidlöslichkeit keine Rolle spielen kann, geht schon

aus der auf S. 45 erwähnten Tatsache hervor, daß manche in Chloroform + Diamylamin stark löslichen Farbstoffe nicht, dagegen aber einzelne nicht „lipoid"-lösliche gut aufgenommen werden. Die letzteren müssen also auch permeieren können.

Um diese Frage zu entscheiden, prüfte ich die Diffusionsgeschwindigkeit der benutzten sauren Farbstoffe und einer Reihe basischer Farbstoffe in 10%iger Gelatine.

Diese schon häufig in der Literatur benutzte Methode kann natürlich nur Relativwerte liefern. Gerade beim Vergleich saurer und basischer Farbstoffe müßte man die Adsorption der Farbionen bei den basischen Farbstoffen durch die Gelatine berücksichtigen; d. h. der Dissoziationsgrad wird die Wanderungsgeschwindigkeit beeinflussen. Durch die Adsorption der Farbionen wird die Wanderungsgeschwindigkeit der basischen Farbstoffe auf der alkalischen Seite vom isoëlektrischen Punkt der Gelatine verringert werden (vgl. z. B. Drawert 1937a, S. 349, 350. Fig. 3 und 4). Da die C_H der von mir benutzten Farbstofflösungen aber in der Nähe des IEP der Gelatine lagen, dürfte dieser Faktor die Versuche nicht ausschlaggebend bestimmt haben, so daß diese Methode doch einige Anhaltspunkte gibt.

Für die Versuche wurden Reagenzgläser mit 10%iger Gelatinelösung zu $^3/_4$ gefüllt, und nach dem Erstarren der Gelatine überschichtete ich diese mit 10 cm³ 0,1%iger Farbstofflösung (in dest. Wasser gelöst).

In Fig. 3 und 4 sind die erhaltenen Ergebnisse wiedergegeben. Aus den Kurven für die sauren Farbstoffe geht zunächst einwandfrei hervor, daß die Teilchengröße für ihr Permeiervermögen ausschlaggebend ist. Die Farbstoffe unter einer bestimmten Diffusionshöhe werden nicht mehr von den Epidermiszellen von *Chrysanthemum leucanthemum* aufgenommen, und die unter einer weiteren, etwas kleineren, Diffusionshöhe dringen auch nicht mehr in die Mesophyllzellen von *Philadelphus* ein.

Mit Ausnahme von Lichtgrün tritt also bei der Aufnahme der sauren Farbstoffe durch die Blumenblattzellen eindeutig die Permeabilität nach dem Ultrafilterprinzip als begrenzender Faktor auf.

Weiter ist aus den Befunden zu schließen, daß sich die Plasmagrenzflächen der Epidermiszellen von *Chrysanthemum* und die der Mesophyllzellen von *Philadelphus* durch ihre Porenweite unterscheiden.

Da, wie Fig. 3 zeigt, bei den sauren Farbstoffen ebenso wie bei den basischen die Teilchengröße die Permeierfähigkeit bestimmt, ist ein Vergleich der für beide Farbstoffgruppen erhaltenen Kurven ohne weiteres zulässig. Aus Fig. 3 und 4 geht nun eindeutig hervor, daß die Teilchengröße der aufnehmbaren Farbstoffe bei beiden Farbstoffgruppen in derselben Größenordnung liegen. Die Permeabilität

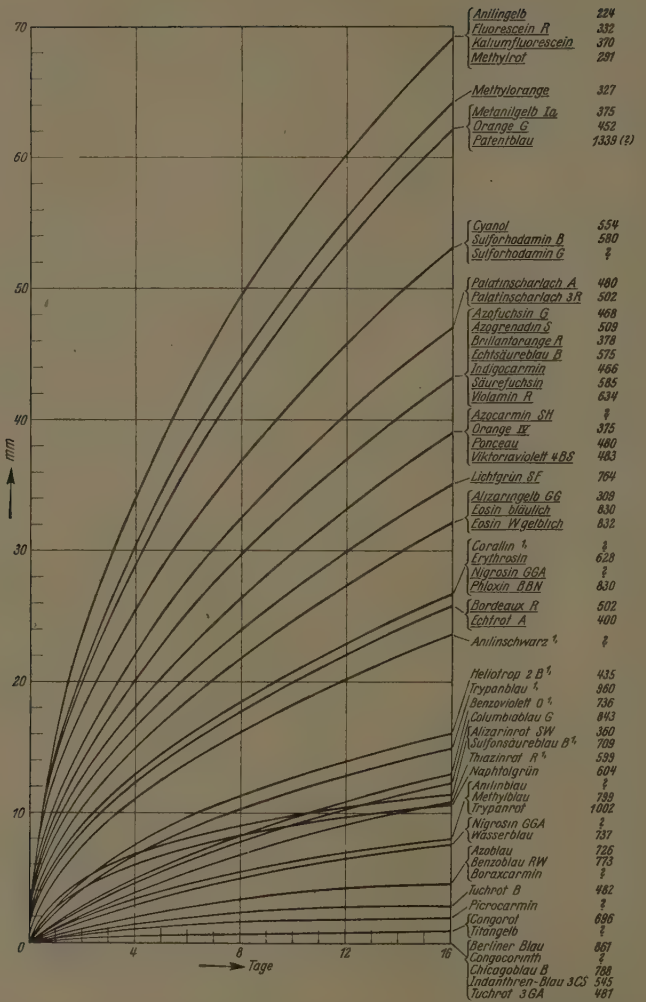


Fig. 3. Diffusionshöhen der sauren Farbstoffe (1 : 1000 in dest. Wasser gelöst) in 10%iger Gelatine. Die unterstrichenen Farbstoffe außer Lichtgrün werden von den Epidermiszellen der Blumenblätter von *Chrysanthemum leucanthemum* aufgenommen. Auf der Abszisse ist die Diffusionshöhe in Millimetern und auf der Ordinate die Zeit in Tagen aufgetragen. Die Zahlen hinter den Farbstoffnamen geben die abgerundeten Molekulargewichte wieder. Für Nigrosin GGA sind 2 Kurven eingetragen, da dieser Farbstoff deutlich polydispers ist.

1) Farbstoff wird noch von den Mesophyllzellen von *Philadelphus* aufgenommen.

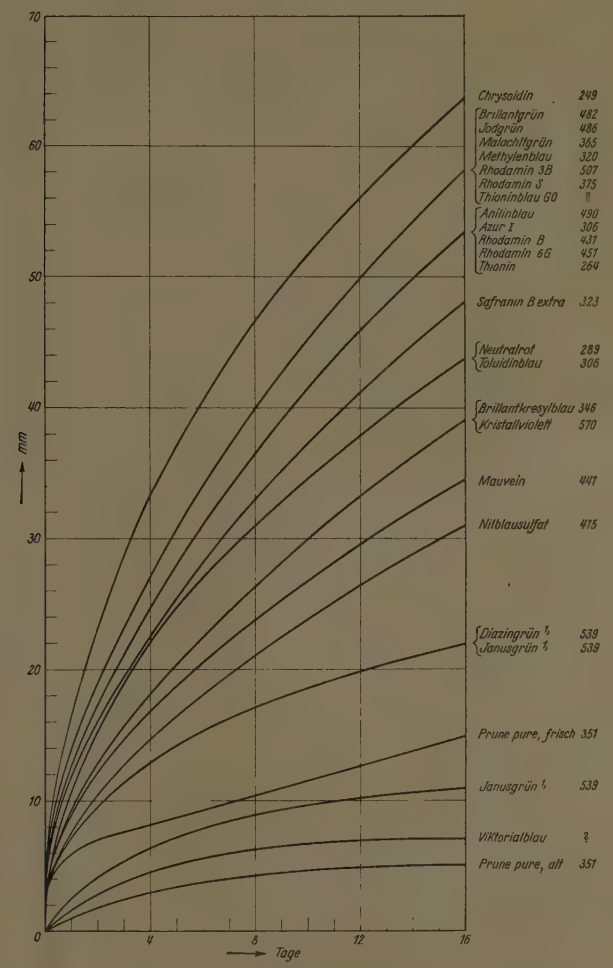


Fig. 4. Diffusionshöhen der basischen Farbstoffe (1 : 1000 in dest. Wasser gelöst) in 10%iger Gelatine. Auf der Abszisse ist die Diffusionshöhe in Millimetern und auf der Ordinate die Zeit in Tagen aufgetragen. Die Zahlen hinter den Namen geben die abgerundeten Molekulargewichte wieder. Für Janusgrün sind 2 Kurven eingetragen, da dieser Farbstoff polydispers ist. Ebenso für Prune pure, das seinen Dispersionsgrad in der Lösung mit der Zeit ändert.

1) Farbstoff steht an der Grenze der vitalen Aufnehmbarkeit.

kann also nicht für den Unterschied in der Aufnahmegeschwindigkeit der sauren und der basischen Farbstoffe verantwortlich gemacht werden.

Wie die Kurven in Fig. 4 für Prune pure wiedergeben, erklärt sich die Unbrauchbarkeit älterer Lösungen dieses Farbstoffes für Vitalfärbungen (vgl. DRAWERT 1938, S. 182) ohne weiteres aus der Teilchenvergröberung. Die Diffusionskurve für die frisch angesetzte Prune pure-Lösung beginnt sehr steil, entsprechend den anderen vitalfärbenden basischen Farbstoffen, wird dann aber rasch flacher. Parallel diesem Diffusionsverhalten wird auch nur aus der frisch angesetzten Farbstofflösung Prune pure von der lebenden Zelle aufgenommen. In 1—2 Tage alten Lösungen tritt keine Vitalfärbung auf, trotzdem die Lipoidlöslichkeit sich keineswegs irgendwie geändert hat. Der Kurvenverlauf zeigt aber deutlich, daß der Farbstoff jetzt nicht mehr permeieren kann, daß hier also die Permeabilität nach dem Ultrafilterprinzip als begrenzender Faktor für die Aufnahme in Erscheinung tritt. Entsprechend den größeren Teilchen zeigt eine ältere Prune pure-Lösung auch gleich am Anfang einen viel flacheren Verlauf der Diffusionskurve, wie Fig. 4 belegt. Die Befunde am Prune pure sind wohl ein klarer Beweis, daß auch für die stark lipoidlöslichen basischen Farbstoffe das Permeiervermögen durch die Teilchengröße bestimmt wird.

Ebenso erklärt auch die Diffusionskurve das Verhalten des Viktoriablaus gegenüber der lebenden Zelle. Eine Lösung dieses Farbstoffes 1 : 1000 in dest. Wasser flockt nicht so schnell aus, wie eine Lösung 1 : 10000 in Puffergemischen (vgl. DRAWERT 1940, S. 174). Nach einigen Tagen ist der Farbstoff noch vollkommen in Lösung, eine Vitalfärbung findet aber nicht statt, trotz der großen Lipoidlöslichkeit des Viktoriablaus. Wie Fig. 4 darlegt, kann der Farbstoff auf Grund seiner Teilchengröße gar nicht permeieren, kann also auch nicht aufgenommen werden, obgleich die Zelle für den Farbstoff eine große Aufnahmefähigkeit besitzt.

Ein Farbstoff, der gerade auf der Grenze der Permeierfähigkeit liegt, ist das Janusgrün bzw. das Diazingrün; nach SCHULTZ 1931, Bd. I, S. 123, Nr. 282 sollen beide Farbstoffe identisch sein. Das Janusgrün besitzt zwei verschieden disperse Phasen, wie aus Fig. 4 hervorgeht, das Diazingrün dagegen nicht. Die geringer disperse Phase dürfte kaum noch von der lebenden Zelle aufgenommen werden, die höher disperse Phase, die dem Diazingrün entspricht, evtl. gerade noch, je nach der Größe der Plasmaporen des untersuchten Objektes. Aus der Teilchengröße erklärt sich wahrscheinlich auch, daß die Aufnahme dieser Farbstoffe durch die lebende Zelle, die mindestens im stark alkalischen Bereich stattfinden müßte, schlecht ist (vgl. DRAWERT 1940, S. 166, Nr. 13 und S. 168, Nr. 18). Im Gegensatz zu RUHLAND (1912, S. 381) bekam ich mit Diazingrün an der Unterepidermis von *Allium cepa*-Schuppenblättern keine Vakuolenfärbung (DRAWERT 1940, S. 166). Dieser Unterschied kann nicht nur darauf beruhen, daß das von mir benutzte Zwiebelmaterial ärmer an den Farbstoff speichernden Stoffen war, sondern auch darauf, daß sich die von mir benutzten Zwiebeln durch eine geringe Permeabilität auszeichneten im Vergleich mit dem Versuchsmaterial RUHLANDS. Das letztere wird wohl das Wahrscheinlichere sein; denn eine Permeierfähigkeit des Diazingrüns vorausgesetzt, war ja eine vitale Aufnahme theoretisch zu erwarten, worauf ich schon früher hingewiesen habe (DRAWERT 1940, S. 197). Aus der Diffusionskurve des Diazingrüns erklärt sich jetzt auch ohne weiteres die Nichtaufnahme des Farbstoffes

durch die Zellen des Gerbstoffhorizontes von *Sempervivum holochrysum* (vgl. Drawert 1940, S. 166). Eine Reaktion des Diazingrüns als basischen Farbstoffs mit Gerbstoffen ist zu erwarten, d. h. wenigstens im alkalischen Bereich mußte eine Aufnahme durch gerbstoffführende Zellen eintreten; daß sie bei *Sempervivum* unterblieb, läßt sich, wie Fig. 4 belegt, auf die Teilchengröße des Farbstoffes zurückführen. Auch in diesem Fall erscheint also die Permeabilität im Sinne der Ultrafiltertheorie als aufnahmebegrenzender Faktor.

Leider ist mir in meiner letzten Arbeit (1940, S. 197) bei einem Zitat nach Ruhland 1912, S. 381) insofern ein Versehen unterlaufen, als sich der von mir zitierte Satz nicht auf Diazingrün selbst, sondern auf Neutralrot bezieht. Die Erklärung Ruhlands für das unterschiedliche Verhalten der beiden Zwiebelepidermen gegenüber Neutralrot läßt sich aber wohl auch ohne weiteres auf das Diazingrün übertragen, wie ich es in der angeführten Arbeit ausgeführt habe.

Zu Punkt 2 (Eigenschaften des Farbstoffes): Für die Aufnehmbarkeit der basischen Farbstoffe scheint der Dissoziationsgrad eine große Rolle zu spielen. Je stärker der Farbstoff dissoziiert ist, um so schlechter wird er von der lebenden Zelle aufgenommen. Es liegt natürlich nahe, die geringe Aufnahmegeschwindigkeit der sauren Farbstoffe darauf zurückzuführen, daß sie stärker dissoziiert sind als die basischen. Hierfür liegen auch einige Anhaltspunkte vor.

In den Elektrophoreseversuchen wanderten die sauren Farbstoffe bedeutend schneller als die basischen. Auch die Steighöhen im Filtrierpapier betrugen bei den Säurefarbstoffen häufig ein vielfaches der Steighöhen der basischen. Das letztere kann allerdings auch auf eine stärkere Adsorption der Farbkationen durch die Zellulose zurückgeführt werden.

Weiter ergaben Leitfähigkeitsmessungen mit dem „Universal-Leitfähigkeitsmeßgerät nach Dr. Tödt/Dr. Gollnow“ für die sauren Farbstoffe eine zum Teil ganz beträchtlich höhere Leitfähigkeit als für die basischen. Benutzt wurden 0,01 mol. Lösungen in dest. Wasser. Um genauere Angaben machen zu können, muß natürlich erst außer anderen die Leitfähigkeit beeinflussenden Faktoren auch der Reinheitsgrad der untersuchten Farbstoffe geprüft werden. Es soll deshalb erst in einer späteren Arbeit näher auf die Leitfähigkeitsmessungen eingegangen werden.

Auffallend bei den Leitfähigkeitsbestimmungen war, daß das Lichtgrün von allen geprüften Farbstoffen die größte Leitfähigkeit besitzt. Vielleicht erklärt sich daraus das abweichende Verhalten des Lichtgrüns, mit dem es mir nicht gelungen ist, eine Vitalfärbung zu erreichen (vgl. S. 39). Aus der Diffusionskurve in Fig. 3 zu schließen, hat das Lichtgrün eine Teilchengröße, für die die Plasmagrenzflächen der untersuchten Zellen permeabel sein müssen. Wenn die sauren Farb-

stoffe ebenfalls nur in molekularer Form aufgenommen werden, wie ich es für die basischen auf Grund meiner Versuchsergebnisse als sehr wahrscheinlich annehme, so ist es nicht unmöglich, daß das Lichtgrün einen Dissoziationsgrad besitzt, der die Aufnahme stark hemmt, wenn nicht gar verhindert. Andererseits besteht aber auch die Möglichkeit, daß der aufgenommene Farbstoff in der lebenden Zelle entfärbt wird. Dasselbe sollte dann auch mit dem Säurefuchsin geschehen: was jedoch, wie aus den Angaben auf S. 42 zu ersehen, nicht der Fall ist.

Die bis jetzt vorliegenden Versuchsergebnisse beweisen zwar nicht, daß ein hoher Dissoziationsgrad der sauren Farbstoffe die Aufnahmegeschwindigkeit herabsetzt, sie schließen diese Möglichkeit aber auch nicht aus, sondern sprechen im Gegenteil dafür. Auch HÖBER (1926, S. 539) gibt schon an, daß die Sulfosäurefarbstoffe in ihren höher dispersen Vertretern in bezug auf ihre elektrolytische Dissoziation den anorganischen Salzen vergleichbar sind.

Zu Punkt 3 (Aufnahmefähigkeit der Zelle): Ein Vergleich mit den basischen Farbstoffen zeigt deutlich, daß die meisten sauren Farbstoffe von einer ganz anderen Phase der lebenden Zelle aufgenommen bzw. gespeichert werden müssen als die basischen. Die Aufnahme der basischen Farbstoffe durch die gerbstofffreie Zelle ging vollkommen parallel ihrer Löslichkeit in neutralen bzw. sauren organischen Lösungsmitteln. Ich schloß aus diesem Verhalten, daß die basischen Farbstoffe in der Zelle in einer hydrophoben organischen Phase gelöst vorliegen, und daß über ihre Aufnahme, soweit sie permeieren können, der Verteilungskoeffizient entscheidet.

Daß die basischen Farbstoffe in den Zellen sehr wahrscheinlich in einer gelösten Form vorliegen, konnte ich jetzt gut an vollkommen ruhenden Herbstzwiebeln von *Allium cepa* mit dem Farbstoff Rhodamin B beobachten. Nach STRUGGER (1938) speichern die Oberepidermiszellen der Schuppenblätter von *Allium* das Rhodamin B im Kern und im Cytoplasma mit rotem Farbton und starker Fluoreszenz. Diese Beobachtungen konnte ich vollkommen bestätigen (DRAWERT 1939, S. 384). Bei einer Wiederholung der Versuche an völlig ruhenden Herbstzwiebeln ließ sich keine im Hellfeld sichtbare Vitalfärbung erzielen. Im Lumineszenzmikroskop war aber eine sehr starke Fluoreszenz der Kerne und des Cytoplasmas zu beobachten (vgl. auch DRAWERT 1939, S. 390). Die lipoide Phase der Kerne und des Cytoplasmas muß in diesem Fall vollkommen frei von sauren Bestandteilen gewesen sein, so daß entsprechend den Modellversuchen mit neutralen Lösungsmitteln (DRAWERT 1939, S. 381) das Rhodamin B in diesen Phasen der Zelle unter Farbverlust, aber Beibehaltung der Fluoreszenz gelöst worden ist.

Bei den hydrophoben organischen Phasen der Zelle, die die basischen Farbstoffe aufnehmen, muß es sich um lebenswichtige Struk-

turen handeln, die durch das Eindringen der Farbstoffmoleküle gestört werden, was über kurz oder lang zu letalen Erscheinungen führt.

Den basischen Farbstoffen entsprechend verhalten sich die in neutralen organischen Medien löslichen sauren Farbstoffe wie vor allem Methylrot und weiter Alizaringelb, Anilingelb, Eosine, Erythrosin, Phloxin. Diese sauren Farbstoffe werden von den Zellen wahrscheinlich in denselben, immer vorhandenen strukturwichtigen Phasen gespeichert wie die basischen Farbstoffe, wirken deshalb auch mehr oder weniger toxisch auf die Zelle. In meinen Versuchen sind dies außer den Fluoresceïnen die einzigen sauren Farbstoffe, die vor allem die Kerne und das Cytoplasma vital färben und verhältnismäßig schnell von den Zellen aufgenommen werden. Diesen sauren Farbstoffen ist auch noch mit den basischen gemein die große C_H-Abhängigkeit der Vitalfärbung und die schnelle Entfärbung nach einer Übertragung der gefärbten Zellen in farblose Pufferlösungen mit bestimmtem pH (bei den sauren mit hohem pH und bei den basischen mit niedrigem pH, vgl. z. B. Methylrot, S. 40).

Daß es sich auch bei der Speicherung dieser sauren Farbstoffe entsprechend den basischen wahrscheinlich um einen Lösungsvorgang in einer hydrophoben organischen Phase und nicht um eine Adsorption handelt, geht aus den Angaben Dörings (1935, S. 418) über Eosin hervor. Nur die lebenden gefärbten Zellen weisen im UV-Licht eine Fluoreszenz auf, während die toten Zellen zwar im Hellfeld stark gefärbt sind, aber keine oder nur eine schwache Fluoreszenz besitzen. Döring schließt aus diesem unterschiedlichen Verhalten schon folgerichtig auf eine verschiedene Art der physikalisch-chemischen Bindung des Farbstoffes in beiden Fällen. Bei der Farbstoffaufnahme durch die tote Zelle handelt es sich hier ohne Zweifel um eine elektrostatische Adsorption (vgl. Drawert 1937a, b); denn die Fluoreszenzlöschung kann nicht den Erscheinungen in den von mir mit Chloroform durchgeführten Modellversuchen gleichgesetzt werden (S. 36, 37). Im Chloroform geht der Fluoreszenzlöschung ein allgemeiner Farbverlust parallel, während die toten Zellen im Hellfeld eine besonders intensive Färbung der Kerne und des Cytoplasmas zeigen. Für das Verhalten der lebenden Zellen geben dagegen evtl. die Modellversuche mit Chloroform + Diamylamin eine Parallele; denn in diesem Fall ist die organische Phase gefärbt, und auch die Fluoreszenz bleibt erhalten.

Im Gegensatz zu den basischen und den soeben besprochenen sauren Farbstoffen werden die anderen Säurefarbstoffe nicht nur sehr langsam aufgenommen, sondern auch von den einmal gefärbten Zellen praktisch nicht wieder abgegeben (vgl. Collander 1921, S. 375). Weiter ist auffallend die völlige Vitalität der mit diesen Farbstoffen gefärbten Zellen (vgl. auch Collander 1921, S. 362 und Küster 1940, S. 155). So waren z. B. in meinen Versuchen mit Ponceau gefärbte Zellen nach 6 Tagen noch am Leben und vollkommen normal plasmolysierbar.

Die in den untersuchten neutralen organischen Lösungsmitteln nicht löslichen sauren Farbstoffe müssen also von der Zelle in Phasen aufgenommen werden, die mit den lebenswichtigen Strukturen der Zelle nicht im Zusammenhang stehen, also wohl von lebensunwichtigen Zwischen-, Neben- oder Endprodukten eines Prozesses, etwa der Atmung.

Für diese Auffassung spricht die große Abhängigkeit der Aufnahme saurer Farbstoffe von Außenfaktoren wie Temperatur, Narkotika und Sauerstoff (vgl. COLLANDER 1921, S. 390—392 und COLLANDER und HOLMSTRÖM 1937), während die Aufnahme der basischen Farbstoffe nach PFEFFER (1886, S. 282—286) von diesen Faktoren nicht so stark beeinflußt wird.

Nach den Befunden von COLLANDER und HOLMSTRÖM (1937, S. 132) dürften sich bei meiner Versuchsanordnung die Zellen kaum färben; denn den Farbstofflösungen und den Objekten wurde ja vorher durch die Evakuierung die Luft entzogen, und außerdem verschloß ich die Glasschälchen mit einem Deckel. Wie aus den mitgeteilten Versuchsprotokollen aber hervorgeht, speicherten die Zellen auch unter diesen Bedingungen die Farbstoffe zum Teil sehr gut. Ich führte deshalb zur Orientierung mit Cyanol 1 : 1000 in dest. Wasser gelöst einige Kontrollversuche durch.

I. Blumenblätter von *Anemone japonica*, *Scabiosa atropurpurea* (weiß) und *Anthemis nobilis* wurden A) nach meiner üblichen Methode behandelt, B) in ausgekochtes Wasser + Cyanol übertragen, evakuiert und mit einem Gummistopfen fest verschlossen und C) Versuchsanstellung wie in A), aber mit dauernder Luftdurchleitung.

Ergebnisse: In A) und B) waren nach 15 Stunden die Vakuolen gleich gut gefärbt, und in C) zeigten nach $2^1/_2$ Stunden nur die Epidermiszellen über und die Mesophyllzellen neben den Leitbündeln eine schwache Vakuolenfärbung. Dies Bild entsprach vollkommen der in Versuch A) nach derselben Zeit auftretenden Färbung.

Da diese Versuche kein eindeutiges Ergebnis lieferten, setzte ich noch eine weitere Versuchsreihe an.

II. Blumenblätter von *Anthemis nobilis* in Cyanol 1 : 1000 in dest. Wasser gelöst: A) mit üblicher Methode, B) unter dauernder Luftdurchleitung, C) unter fortwährender Evakuierung durch die Wasserstrahlpumpe.

Ergebnisse: Nach 2 Stunden waren in A), B) und C) die Parenchymzellen längs der Leitbündel und auch die darüberliegenden Epidermiszellen gleich schwach gefärbt. Nach $5^1/_2$ Stunden zeigten die Blätter in A) sehr gute, in B) etwas schwächere und C) nur schwache Vakuolenfärbung.

Wie aus den Ergebnissen der zweiten Versuchsreihe hervorgeht, hemmt in der Tat ein starker Sauerstoffentzug die Farbstoffaufnahme.

Offenbar war bei meinen Versuchsobjekten ein größerer Sauerstoffmangel notwendig, um diese Hemmungen in Erscheinung treten zu lassen, als bei den von COLLANDER und HOLMSTRÖM benutzten Perigonblättern von Tulpen und Hyacinthen. Weshalb in Versuch II, B) eine schwächere Färbung eintrat als in II, A), habe ich noch nicht einwandfrei geklärt. Auf eine Erklärungsmöglichkeit soll aber weiter unten hingewiesen werden.

Aus dem Einfluß der erwähnten Außenfaktoren, besonders des Sauerstoffs, auf die Aufnahme sulfosaurer Farbstoffe ziehen COLLANDER für pflanzliche und HÖBER für tierische Objekte — wie in der Einleitung zu dieser Arbeit bereits erwähnt — den Schluß, daß die Plasmagrenzflächen für diese Farbstoffe ganz allgemein impermeabel sind. Aus diesem Grund muß nach COLLANDER und HOLMSTRÖM (1937) die pflanzliche Zelle zur Überwindung des Widerstandes der Plasmagrenzflächen bei der Aufnahme dieser Farbstoffe Energie verbrauchen, die von der Atmung geliefert wird. Der Sauerstoffentzug wirkt also nach diesen Autoren auf die zur Aufnahme notwendige Energiequelle.

Ich halte aber die Auffassung von RUHLAND (1912) und BETHE (1922), daß die Plasmagrenzflächen für die sulfosauren Farbstoffe ebenso permeabel sind wie für die basischen, sofern die Farbstoffe einen nicht zu geringen Dispersitätsgrad besitzen, für zutreffender. Zur Erklärung der Unterschiede in der Aufnahmefähigkeit der einzelnen Zellen möchte ich nun folgende Hypothese zu Hilfe nehmen.

Der Farbstoff dringt in die Zelle ein, wird aber, sofern die Zelle keine oder nur geringe Aufnahmefähigkeiten für ihn besitzt, nicht bis zum Konzentrationsausgleich oder darüber aufgenommen. Die Farbstoffkonzentration bleibt in diesen Zellen also so gering, daß der aufgenommene Farbstoff nicht ohne weiteres sichtbar wird. Daß der Farbstoff in der Tat auch in Zellen, die ihn nicht speichern, permeieren kann, geht aus den Angaben COLLANDERS (1921) hervor, dem es gelang, im Zellinnern Farbstoffkonzentrationen nachzuweisen, die um das 8—160fache unter der Außenkonzentration lagen.

Für die sauren Farbstoffe haben aber die meisten Zellen keine oder nur wenige Stoffe, die zu diesen irgendwelche Affinitäten besitzen, so daß es im allgemeinen — sei es auf dem Wege der Lösung, der chemischen Reaktion oder der Adsorption — zu keiner Aufnahme und erst recht zu keiner Speicherung kommt. Besondere Zellgruppen zeichnen sich jedoch dadurch aus, daß sie bei der Atmung Zwischenprodukte bilden, die bestimmte Affinitäten zu den sauren Farbstoffen haben. In dem Maß, wie diese Zwischenprodukte gebildet werden,

muß es zu einer Aufnahme der sauren Farbstoffe kommen. Durch die Anlagerung von Farbstoffkomponenten werden diese Zwischenprodukte aus dem Stoffwechselprozeß zunächst ausgeschaltet und bleiben in der Vakuole der Zelle als unschädliche Schlacken liegen. Man könnte den Prozeß in gewisser Beziehung etwa mit der Entstehung von Calciumoxalat vergleichen.

Die Aufnahmegeschwindigkeit der Farbstoffe wird dann von der Entstehungs- und Abbaugeschwindigkeit bestimmter Zwischenprodukte bei der Atmung abhängen. Werden diese Stoffe nur in geringen Mengen pro Zeiteinheit gebildet, muß naturgemäß die Aufnahme der sauren Farbstoffe viel langsamer vor sich gehen als die der basischen, die zu den immer in der Zelle in größeren Mengen vorhandenen Stoffen Affinitäten besitzen. Weiter müssen alle den Stoffwechselvorgang beeinflussenden Faktoren sich auch auf die Aufnahmegeschwindigkeit der sauren Farbstoffe auswirken. So läßt sich auch der Einfluß des Sauerstoffes dadurch erklären, daß ein Sauerstoffentzug die Atmung verlangsamt und somit die Menge der in der Zeiteinheit entstehenden Zwischenprodukte verkleinert, oder daß der Stoffwechselprozeß in ganz andere Bahnen mit anderen Stoffwechselprodukten gelenkt wird und eine Aufnahme und Speicherung überhaupt ausbleibt. In derselben Richtung müssen natürlich auch die die Atmung beeinflussenden Narkotika wirken.

Andererseits kann aber auch eine zu reichliche Sauerstoffzufuhr den Abbauvorgang so intensivieren, daß die entstehenden Zwischenprodukte weiter zerfallen, ehe die Farbstoffeinheiten hinzutreten können, um sie abzubinden und damit aus dem Abbauprozeß zunächst auszuschalten. Damit würden sich auch die von mir auf S. 56 in Versuch II, B) geschilderten Ergebnisse einer Aufnahmehemmung durch künstliche Sauerstoffzufuhr erklären.

Wie die zu Punkt 3 (vgl. S. 48) gemachten vorstehenden Ausführungen zeigen, ist also außer der Dissoziation (Punkt 2) wohl in erster Linie die Aufnahmefähigkeit der Zelle für die unterschiedliche Aufnahmegeschwindigkeit der sauren und basischen Farbstoffe verantwortlich zu machen.

Welcher Art die Verbindung ist, die der saure Farbstoff mit den Zwischenprodukten eingeht, darüber kann ich vorläufig nichts aussagen. Es lassen sich nur mit aller Wahrscheinlichkeit einige Möglichkeiten ausschließen. So glaube ich, daß es sich im Gegensatz zu den basischen Farbstoffen (in bezug auf die gerbstofffreie Zelle) nicht um eine Lösung handeln kann, da der Farbstoff von der Zelle so fest-

gehalten wird, daß eine Änderung des Außenmediums, die auch eine Änderung des Verteilungskoeffizienten bedingt, ohne Einfluß ist. Eine elektrostatische Adsorption kann es aber auch nicht sein, da, wie die Versuche mit Sulforhodamin G ergeben haben (vgl. S. 43), die gefärbten Vakuolen stark fluoreszieren, während die toten Kerne und Cytoplasmen, die den Farbstoff elektro-adsorptiv gebunden haben, keine oder nur sehr geringe Fluoreszenz zeigen. Am treffendsten wird wohl die Annahme einer chemischen Bindung sein.

Mit der geschilderten Hypothese läßt sich wohl das rätselhafte Verhalten der sulfosauren Farbstoffe am einfachsten erklären. Ich möchte auch den Begriff „adenoide Tätigkeit" beibehalten, darunter aber nicht einen energetischen Prozeß wie Collander verstehen, sondern einen chemischen Prozeß, d. h. nicht die bei der Atmung freiwerdende Energie gibt den Ausschlag, sondern die im Stoffwechselvorgang bestimmter Zellgruppen entstehenden Zwischen-, Neben- oder auch Endprodukte sind maßgebend.

Den Begriff „physiologische Permeabilität" Höbers muß ich allerdings ablehnen: denn in dem Wort „Permeabilität" wird ja zum Ausdruck gebracht, daß ein in den Plasmagrenzflächen sich abspielender Vorgang gemeint ist.

Den Vorgang der Aufnahme saurer Farbstoffe können wir uns also nach den hier entwickelten Vorstellungen folgendermaßen denken: Das Molekül des Farbsalzes oder der Farbsäure (damit soll nicht ein evtl. auftretender Ionenaustausch geleugnet werden) permeiert auf Grund seiner Teilchengröße und des Durchmessers der Plasmagrenzflächenporen passiv in die Zelle. Besitzt die Zelle keine oder nur geringe Aufnahmefähigkeit für den Farbstoff, so stellt sich ein Gleichgewicht ein, bei dem die Farbstoffkonzentration im Zellinnern kleiner ist als die äußere. Entstehen nun aber durch die Stoffwechseltätigkeit in der Zelle Zwischen-, Neben- oder Endprodukte, die zu den Farbstoffen eine bestimmte, wahrscheinlich chemische Affinität besitzen, so werden diese beiden Komponenten eine Verbindung eingehen, die in der Vakuole meist in diffuser Form abgelagert wird. Dadurch wird aber das zunächst angenommene Gleichgewicht zwischen Außen und Innen gestört, und es muß wieder etwas Farbstoff nachdringen. So kommt es in diesen Zellen allmählich zu einer immer stärkeren Aufnahme und schließlich zu einer Speicherung, d. h. einer Aufnahme über den Konzentrationsausgleich hinaus.

Die Möglichkeit der Entstehung der für die Aufnahme wichtigen

Stoffwechselprodukte ist natürlich in den Zellen am größten, die sehr intensiv atmen. Und tatsächlich besitzen ja auch von den drei Zellgruppen, die nach Collander (1921) besonders dazu neigen, sulfosaure Farbstoffe aufzunehmen (vgl. S. 22), mindestens zwei — nämlich die Blumenblattzellen und die jugendlichen Zellen — im allgemeinen eine hohe Atmungsintensität.

Wenn die gemachten Annahmen zu Recht bestehen, wird man kaum erwarten dürfen, daß die an einem Objekt mit sauren Farbstoffen erhaltenen Ergebnisse an einem anderen Objekt sich genau wiederholen müssen; denn man würde dann ja voraussetzen, daß beide Objekte genau denselben Stoffwechsel mit denselben Zwischenprodukten haben. Das wird aber wohl kaum zutreffen. So erscheint es mir auch nicht zulässig, wenn Suolathi (1937) die von Banus (1927) oder Höber (1933) an *Spirogyra* erhaltenen Befunde an *Chara* nachprüft.

Gegen die Auffassung einer Permeabilität der Plasmagrenzflächen für sulfosaure Farbstoffe lassen sich die Injektionsversuche Plowes (1931) anführen. Plowe injizierte unter den auch von mir untersuchten Farbstoffen Anilinblau und Säurefuchsin u. a. in die Vakuolen der Wurzelhaare von *Trianea bogotensis* und fand, daß Anilinblau aus der Vakuole erst austrat, wenn die Zellen abstarben. Mit Säurefuchsin waren die Ergebnisse dagegen nicht so eindeutig. Hier entfärbten sich die Zellen zum Teil schon, obgleich sie noch normale Plasmaströmung zeigten (S. 227). Verf. nimmt in diesen Fällen eine lokale Schädigung des Cytoplasmas an. Plowe schließt aus seinen Versuchen auf eine echte Impermeabilität des Protoplasten. Wie meine Versuche belegen, ist die Schlußfolgerung von Plowe für das Anilinblau vollkommen zutreffend; denn das saure Anilinblau hat so große Teilchen, daß es nicht permeieren kann (außerdem gibt es aber im Handel auch einen basischen Farbstoff unter dem Namen Anilinblau, vgl. Drawert 1940, S. 163 und Fig. 4 in dieser Arbeit). Säurefuchsin muß dagegen — falls meine Auffassung zutrifft — in den Versuchen Plowes schon austreten, solange noch die Zelle lebend ist. Die Annahme einer lokalen Plasmaschädigung in den, seiner Auffassung nach, negativen Versuchen mit Säurefuchsin ist also gar nicht notwendig. Es ist auch nicht einzusehen, weshalb in den Versuchen mit Anilinblau nicht auch hin und wieder solche lokalen Schädigungen, wie sie beim Säurefuchsin vorkommen sollen, aufgetreten sind. Plowe berichtet jedenfalls nichts darüber. Die Ergebnisse Plowes sind also nicht einwandfrei genug, um auch eine Impermeabilität der Plasmagrenzflächen für die sauren Farbstoffe mit höherer Dispersität anzunehmen.

Auf die Injektionsversuche von CHAMBERS und KERR (1932) will ich an dieser Stelle noch nicht eingehen, da sie mit Ausnahme des Methylrots mit Farbstoffen ausgeführt worden sind, die ich noch nicht in meine Untersuchungen einbezogen habe. Die mit Methylrot von den Verf. erzielten Ergebnisse sprechen zwar völlig für meine Auffassung, sind aber doch nicht beweisend, da nach meinen Versuchen das Methylrot der lebenden Zelle gegenüber das Verhalten eines basischen Farbstoffes aufweist.

Ich bin mir der Schwierigkeiten wohl bewußt, die sich der von mir gegebenen Erklärung vor allem von osmotischer Seite entgegenstellen. Setzt doch die Annahme von Gleichgewichtszuständen, bei denen die Konzentrationen auf beiden Seiten verschieden sind, von einer osmotischen Betrachtungsweise aus voraus, daß in den Zellen fast kein „freies" Wasser vorhanden sein darf. COLLANDER (1921, S. 386) macht schon auf diese Schwierigkeit aufmerksam und betont, daß die Annahme für das eigentliche Protoplasma wohl annehmbar wäre, für den gewiß sehr kolloidarmen Zellsaft pflanzlicher Zellvakuolen aber wohl sicher nicht zutrifft. Die allerdings meist mit hypertonischen Lösungen ausgeführten Permeabilitätsstudien sprechen auch gegen meine Annahme. Hier müssen weitere Untersuchungen einsetzen, um eine Klärung zu bringen. Ich möchte aber noch ausdrücklich betonen, daß sich meine bis jetzt gemachten Ausführungen nur auf die Aufnahme von Farbstoffen, die den Zellen in stark hypotonischen Lösungen geboten wurden, beziehen, also keine allgemeine Hypothese der Stoffaufnahme darstellen.

Die von mir bis jetzt durchgeführten Versuche mit sauren Farbstoffen geben auch Anhaltspunkte, wo weitere Versuche ansetzen müssen, um die Permeabilitätseigenschaften des Protoplasten und ihre Beeinflussung durch Außenfaktoren zu untersuchen. Am interessantesten sind in dieser Hinsicht wohl die Farbstoffe, die mit ihrer Teilchengröße gerade in dem kritischen Bereich an der Grenze der Permeierfähigkeit liegen. So geht aus den auf S. 42 für Sulfonsäureblau (vgl. auch Thiazinrot S. 43) gemachten Angaben eindeutig ein Einfluß der C_H auf die Permeabilität des Protoplasten hervor. In dest. Wasser gelöst, kann der Farbstoff nicht permeieren. Wird er aber in Pufferlösungen mit einem pH über 4,2 (die ungefähre Lage des IEP des Plasmas) gelöst, so beginnen die Zellen der Leitbündelscheide mit fallender C_H das Sulfonsäureblau immer zahlreicher und stärker aufzunehmen, d. h. in diesem Fall müssen die Zellen für den Farbstoff permeabel werden. Diese Erscheinung ist wohl auf die durch die Außen-C_H bedingte Quellung der Plasmagrenzflächen zurückzuführen, die um so größer sein muß, je weiter die C_H der Außenlösung vom IEP der Plasmagrenzflächen entfernt ist. Die größte Permeabilität wäre also bei pH 11,4 zu erwarten. Bei diesem pH ist aber die Färbung gerade wieder schwächer. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß entweder der Farbstoff zu stark dissoziiert ist und dadurch die Aufnahme verlangsamt wird, oder daß das tertiäre Phosphat eindringt und den Stoffwechselprozeß beeinflußt und auf diese Art die Aufnahmefähigkeit der Zelle herabsetzt.

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Für 60 saure Farbstoffe wird die Aufnehmbarkeit durch Blumenblattzellen geprüft. Je nach dem Versuchsobjekt werden davon 32 bzw. 38 Farbstoffe von den lebenden Zellen aufgenommen.

2. Diffusionsversuche in Gelatine ergaben einwandfrei, daß die Permeabilität des Plasmas der Blumenblattzellen für die sauren Farbstoffe der Ultrafiltertheorie Ruhlands entspricht. Mit Ausnahme des Lichtgrüns wird die Aufnahme oder Nichtaufnahme der Farbstoffe bei den eine Aufnahmefähigkeit besitzenden Blumenblattzellen durch die Teilchengröße bzw. den Durchmesser der Plasmagrenzflächenporen bestimmt.

3. Nach ihrer Löslichkeit in neutralem Chloroform und auf Grund ihres Verhaltens gegenüber der lebenden Zelle lassen sich die sauren Farbstoffe in zwei Gruppen einteilen. Die erste Gruppe ist in dem neutralen organischen Lösungsmittel löslich, wird von der Zelle rasch aufgenommen, auf gewisse Änderungen der Außenbedingungen hin auch wieder schnell abgegeben, färbt in erster Linie das Cytoplasma und die Kerne und ist wie die basischen Farbstoffe mehr oder weniger giftig. Die Stoffe der zweiten Gruppe sind im Chloroform nicht oder kaum löslich, werden von den lebenden Zellen sehr langsam aufgenommen, aber auch sehr stark festgehalten, wobei Änderung der Außenbedingungen zu keiner merklichen Entfärbung führt, färben nur die Vakuole meist diffus und sind in weiten Grenzen ungiftig. — Die Fluoresceïne nehmen eine Sonderstellung ein; sie lassen sich in keine der beiden Gruppen ohne weiteres einordnen.

4. Der Unterschied zwischen den basischen und der ersten Gruppe saurer Farbstoffe einerseits und der zweiten Gruppe andererseits in bezug auf die Aufnahmegeschwindigkeit ist nicht auf einen Permeabilitätsunterschied des Plasmas zurückzuführen, sondern außer auf Dissoziationseigenschaften in erster Linie auf eine Verschiedenheit in der Aufnahmefähigkeit der Zellen. Die erste Gruppe einschließlich der basischen Farbstoffe wird wahrscheinlich in Form einer Lösung von einer immer in größerer Menge in den Zellen vorhandenen hydrophoben organischen Phase aufgenommen. Für die Aufnahme der zweiten Gruppe scheinen dagegen immer nur in geringer Menge vorhandene kurzlebige Zwischenprodukte des Stoffwechsels eine Rolle zu spielen. Aus diesem Grund erklärt sich wohl auch die Beeinflussung der Aufnahme von Farbstoffen der zweiten Gruppe durch Außenfaktoren, die auf die Atmung wirken. Bei dem Aufnahmevorgang der zweiten Gruppe handelt es sich wohl

kaum um eine Lösung oder eine elektrostatische Adsorption, sondern wahrscheinlich um eine echte chemische Reaktion.

5. Die mehr oder weniger starke Giftwirkung der basischen und der ersten Gruppe saurer Farbstoffe ist darauf zurückzuführen, daß diese Substanzen von strukturwichtigen Phasen aufgenommen und gespeichert werden und so das ganze Lebensgefüge gestört wird. Die Ungiftigkeit der zweiten Gruppe beruht dagegen darauf, daß diese Farbstoffe mit strukturunwichtigen Zwischen-, Neben- oder Endprodukten des Stoffwechsels reagieren und zunächst als Schlacken in der Vakuole angereichert werden.

6. Der Begriff der „physiologischen Permeabilität" wird abgelehnt, da die sauren Farbstoffe passiv nach dem Ultrafilterprinzip permeieren. Das Ausbleiben einer Anfärbung ist nicht auf eine Impermeabilität, sondern auf eine sehr geringe Aufnahmefähigkeit der Zelle zurückzuführen (vgl. unter 4.).

7. Der Begriff „adenoide Tätigkeit" wird beibehalten, allerdings nicht im energetischen Sinn Collanders, da nicht die freiwerdende Atmungsenergie, sondern die durch die Atmung bedingten Stoffwechselprodukte die Aufnahme oder Nichtaufnahme der zweiten Gruppe der sauren Farbstoffe bestimmen. Die „adenoide Tätigkeit" hat also nichts mit der Permeabilität der Zelle gemein.

Literaturverzeichnis.

Albach, W., Zellenphysiologische Untersuchungen über vitale Protoplasmafärbung. Protopl. **5,** 412 (1928). — Bailey, I., and Zirkle, C., The cambium and its derivative tissues. VI. The effects of hydrogen-ion concentration in vital staining. Jour. Gen. Physiol. **14,** 363 (1931). — Banus, G., Über den Einfluß des elektrischen Stroms auf die Permeabilität von Pflanzenzellen. Pflügers Arch. **202,** 184 (1924). — Bethe, A., Der Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die Permeabilität toter Membranen, auf die Adsorption an Eiweißsolen und auf den Stoffaustausch der Zellen. Biochem. Zschr. **127,** 18 (1922). — Bünning, E., Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus niger*. Flora **131,** 87 (1936). — Chambers, R., and Kerr, Th., Intracellular hydrion concentration studies. VIII. Cytoplasm and vacuole of *Limnobium* root-hair cells. Jour. Cell. and Comp. Physiol. **2,** 105 (1932). — Collander, R., Über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Sulfosäurefarbstoffe. Jb. wiss. Bot. **60,** 354 (1921). — Ders. und Holmström, A., Die Aufnahme von Sulfosäurefarbstoffen seitens pflanzlicher Zellen — ein Beispiel der adenoiden Tätigkeit der Protoplasten. Acta Soc. Fauna et Flora Fenn. **60,** 129 (1937). — Ders. und Virtanen, R., Die Undurchlässigkeit pflanzlicher Protoplasten für Sulfosäurefarbstoffe. Protopl. **31,** 499 (1938). — Döring, H., Versuche über die Aufnahme fluoreszierender Stoffe in lebende Pflanzenzellen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **53,** 415 (1935). — Drawert, H., Untersuchungen über die pH-Abhängigkeit der Plastidenfärbung mit Säurefuchsin und Toluidinblau in fixierten pflanzlichen Zellen. Flora **131,** 341 (1937a). — Ders., Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **132,** 91 (1937b). — Ders., Über die Aufnahme und Speicherung von Prune pure durch die pflanzliche Zelle. Planta **29,** 179 (1938). — Ders., Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende Zelle.

I. Versuche mit Rhodaminen. Planta **29,** 376 (1939). — Ders., II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora **134,** 159 (1940). — Gicklhorn, J., Über vitale Kern- und Plasmafärbung an Pflanzenzellen. Protopl. **2,** 1 (1927). — Ders., Zur Frage der Lebendbeobachtung und Vitalfärbung von Chromosomen pflanzlicher Zellen. Protopl. **10,** 345 (1930). — Ders. und Dejdar, E., Beobachtungen an elektrisch gereizten Pflanzenzellen und die Frage des Nachweises reversibler Permeabilitätserhöhung. Protopl. **13,** 592 (1931). — Guillermond, A., et Gautheret, R., Culture de *Saprolegnia diclina* en milieux additionés de colorants. Co. Re. Ac. Sc. Paris **128,** 493 (1938). — Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Aufl. Leipzig 1926. — Ders., Über den Einfluß des elektrischen Stroms auf die Permeabilität von Pflanzenzellen. Protopl. **19,** 26 (1933). — Küster, E., Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. J. wiss. Bot. **50,** 261 (1912). — Ders., Über vitale Protoplasmafärbung. Zschr. wiss. Mikr. **43,** 378 (1926). — Ders., Über vitale Aufnahme saurer Farbstoffe in Pflanzenzellen. Zschr. wiss. Mikr. **57,** 153 (1940). — Möllendorf, W. v., Die Zelle in ihrer Umwelt. A. Farbenanalytische Untersuchung. Handb. d. Bioch. d. Menschen u. d. Tiere, 2. Aufl., Bd. **2,** 273—314, Jena 1925. — Nirenstein, M., Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. **179,** 233 (1920). — Overton, E., Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. J. wiss. Bot. **34,** 669 (1900). — Plowe, I. A., Membranes in the plant cell. II. Localization of differential permeability in the plant protoplast. Protopl. **12,** 221 (1931). — Pfeffer, W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Unters. Bot. Inst. Tübingen **2,** 179 (1886). — Rehm, S., Untersuchungen über den Wassertransport in *Impatiens Balsamina* L. und *Impatiens Roylei* Walp. Planta **23,** 415 (1935). — Ders., Die Wirkung von Elektrolyten auf die Aufnahme saurer und basischer Farbstoffe durch die Pflanzenzelle. Planta **28,** 359 (1938). — Rhode, K., Untersuchungen über den Einfluß der freien H-Ionen im Innern lebender Zellen auf den Vorgang der vitalen Färbung. Pflügers Arch. **168,** 411 (1917). — Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. **46,** 1 (1908). — Ders., Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. **51,** 376 (1912). — Ders., Zur Kenntnis der Rolle des elektrischen Ladungssinnes bei der Kolloidaufnahme durch die Plasmahaut. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **31,** 304 (1913). — Scarth, G. W., The mechanism of accumulation of dyes by living cells. Plant Physiology **1,** 215 (1926). — Ders., The influence of external osmotic pressure and of disturbance of the cell surface on the permeability of *Spirogyra* for acid dyes. Protopl. **1,** 204 (1927). — Schaede, R., Über das Verhalten von Pflanzenzellen gegenüber Anilinfarbstoffen. Jb. wiss. Bot. **62,** 65 (1923). — Ders., Über die Reaktion des lebenden Plasmas. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **42,** 219 (1924). — Schultz, G., Farbstofftabellen. 7. Aufl., Bd. **1,** Leipzig 1931. — Schumacher, W., Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeïns in den Siebröhren. Jb. wiss. Bot. **77,** 685 (1933). — Strugger, S., Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **49,** 453 (1931). — Ders., Über das Verhalten des pflanzlichen Zellkernes gegenüber Anilinfarbstoffen. Planta **18,** 561 (1932). — Ders., Die Vitalfärbung des Protoplasmas mit Rhodamin B und 6G. Protopl. **30,** 85 (1938a). — Ders., Fluoreszenzoptische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeïnkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora **132,** 253 (1938b). — Suolahti, O., Über den Einfluß des elektrischen Stromes auf die Plasmapermeabilität pflanzlicher Zellen. Protopl. **27,** 496 (1937). — Yamaha, G., Vitalfärbung an den Pollenmutterzellen von *Lilium speciosum*. Cytologia **9,** 193 (1938). — Ders. und Nomura, K., Über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration und der Neutralsalze auf die Vitalfärbung pflanzlicher Protoplasten mit sauren Farbstoffen. Sc. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku, Sect. B, **65,** 27 (1939).

Untersuchungen über Blütenfarbmuster und Blütenfärbungen[1]).

Von **Gerda Floren.**

(Aus den Botanischen Anstalten der Universität Göttingen,)

Mit 13 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Im Laufe der letzten Jahre ist eine Anzahl von Untersuchungen durchgeführt worden, die gezeigt haben, daß Musterung und Färbung der Blüten gewisser Pflanzen von Außenfaktoren abhängig sind (HARDER 1934, 1938; HARDER u. DÖRING 1935; HARDER u. MARHEINEKE 1935; SCHRÖDER 1934; MARHEINEKE 1936). In der vorliegenden Arbeit werden diese Untersuchungen an weiteren Objekten fortgesetzt. Die Aufgabe bestand in der Analyse des Blütenfarbmusters einiger Formen von *Calceolaria hybrida*, *Viola tricolor*, *Cheiranthus Cheiri* und *Gloxinia hybrida grandiflora* sowie in der Untersuchung der Farbänderung während der Anthese bei den Blüten von *Hibiscus mutabilis*, *Diervilla coraeensis*, *Lantana hybrida*, *Victoria regia*, *Viola tricolor* „FÖHN", *Erigeron Karwinskyanus* und *Dianthus barbatus*. — Sowohl bei den Blütenfarbmustern wie auch bei den Blütenfärbungen wurden nur diejenigen berücksichtigt, die durch Anthocyanfarbstoffe bedingt sind.

Methodisches.

a) Temperatureinflüsse.

Für Temperaturversuche standen elektrisch geheizte Glaskästen zur Verfügung, in denen ein Thermoregulator die Temperatur auf $\pm$ 1° C konstant hielt. Die Thermostaten waren 180 cm breit, 60 cm hoch und 85 cm tief. Sie standen im Versuchsgewächshaus im Tageslicht. Durch kleine Öffnungen in ihren Glaswänden war es möglich, von Pflanzen, die innerhalb des Thermostaten standen, Teile nach außen zu führen; auf diese Weise konnten verschiedene Teile einer Pflanze verschiedenen Temperaturen ausgesetzt werden.

1) Erschienen als Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen.

b) Lichteinflüsse.

Ein Teil der Versuche über die qualitative Abhängigkeit der Blütenmusterung und der Färbung der Blüten von der Lichtintensität wurde im Freiland ausgeführt. Dazu wurden Pflanzengruppen mit Überstürzen aus Holzrahmen bedeckt, die mit verschieden stark schattierendem Stoff bespannt waren. Die Absorption des Stoffes war allerdings nicht bei jeder Beleuchtung gleich; bei direkter Sonneneinstrahlung war der Prozentsatz der absorbierten Lichtmenge geringer als bei diffusem Licht. Die Angaben über die Lichtabsorption der Stürze sind daher nur ein relatives Maß und beziehen sich auf Messungen in diffusem Licht von etwa 18000 Lux. Zur besseren Durchlüftung und zum Temperaturausgleich mit dem Freiland blieb auf der nach Norden liegenden Seite der Überstürze die untere Hälfte unbespannt. — Pflanzengruppen, zu denen das Licht nur in einer beschränkten Zahl von Stunden Zutritt haben sollte, wurden nach Ablauf der Belichtungszeit mit Stürzen bedeckt, die innen schwarz und außen weiß bespannt waren. Im Innern der Stürze war im allgemeinen die maximale Tagestemperatur um 1^0 C niedriger, die maximale Nachttemperatur um 1^0 C höher als im Freien.

Bei anderen Versuchen wurden gewöhnliche Osramlampen als Lichtquellen benutzt; eine Wasserkühlung und Wärmeschutzglas BG 19 von Schott-Jena filterten die Wärmestrahlen weitgehend ab. — Sämtliche Lichtmessungen erfolgten mit einer Photozelle, die für Tageslicht geeicht war; wo die Photozelle auch für Lichtmessungen bei elektrischer Beleuchtung benutzt wurde, sind die Lux-Angaben etwas zu niedrig.

Versuche und Versuchsergebnisse.

A. Beeinflussung von Blütenfarbmustern und Blütenfärbungen an Objekten mit einer sensiblen Periode.

I. Calceolaria hybrida „getigert".

Für die Versuche an den beiden getigerten und getuschten Zierformen von *Calceolaria* standen nur Sämlingspflanzen zur Verfügung. Das Saatgut war leider durchaus nicht durchgezüchtet und lieferte daher ein reiches Gemisch von Unterrassen, die sich erst beim Aufblühen der einzelnen Pflanzen klar unterscheiden ließen. Bei der großen Blühwilligkeit der Calceolarien ließen sich jedoch trotz des Mangels an erbgleichen Pflanzen klare Versuchsergebnisse erzielen. Jede Pflanze bildete innerhalb ihrer Blühperiode von 3—4 Wochen etwa 30 Blüten. Nachdem festgestellt war, daß in gewöhnlicher Kultur —

d. h. unter den Bedingungen eines hinsichtlich Temperatur und Beleuchtung gut regulierten Gewächshauses — alle an einer Pflanze auftretenden Blüten unabhängig vom Alter der Pflanze die gleiche Musterung zeigen, war es möglich, an den nacheinander aufblühenden Blüten derselben Pflanze die Einwirkung verschiedener Außenfaktoren auf die Bildung des Blütenmusters zu prüfen. Es standen etwa 300 Versuchspflanzen zur Verfügung.

Die Zeichnung der getigerten *Calceolaria*-Blüte besteht aus ungleich großen und unregelmäßig geformten Anthocyantupfen, die meist zu unregelmäßigen Linien zusammenfließen (Fig. 1); sie erscheinen auf farblosem Grunde rot und auf gelblichem bräunlich. Das Muster sowie seine Änderung wurden in den Versuchsprotokollen durch die Zahl der vorhandenen Anthocyantupfen dargestellt, bzw. durch den in Prozent ausgedrückten Anteil, den die durch Anthocyan gefärbten Teile an der Gesamtoberfläche der Blüte einnehmen. Bei einer großen Anzahl von Versuchspflanzen wurde außerdem das Muster und seine Abänderung photographisch oder durch Abzeichnung festgehalten. Das Muster der frühen Knospenstadien wurde nach vorsichtigem Abheben der Kelchblätter mit der Lupe festgestellt. Als Größenmaßstab der Blüten wurde ihr in Millimeter angegebener größter Durchmesser benutzt.

Fig. 1. Calceolaria hybrida. Blüte der getigerten Rasse, Muster durch Temperatureinfluß etwas aufgehellt.

1. Einfluß der Temperatur.

a) Wirkung der Temperatur auf die Musterbildung.

Junge Pflanzen, die bei gewöhnlicher Kultur im Kalthaus bei 15—20° C schon einige Blüten entwickelt hatten, wurden protokolliert, indem das Muster und die Größe aller an ihnen vorhandenen Blüten und Knospen aufgenommen wurden. Darauf wurden Gruppen von meist 18 Pflanzen in Glasthermostaten, die im Gewächshaus im Tageslicht standen, der Temperatur von 25° C bzw. 30° C bzw. 35° C ausgesetzt. Die einzelnen Serien blieben zwischen $^1/_2$—14 Tagen in der hohen Temperatur. Zur weiteren Entwicklung und Beobachtung wurden die Pflanzen dann in einem gewöhnlichen auf 20° C temperierten Gewächshaus aufgestellt. Während der ganzen Versuchsdauer wurden

ständig Blütenprotokolle aufgenommen. In dieser Weise wurden ca. 150 Pflanzen behandelt.

Die Temperatur von 25° C übte auch bei 14tägiger Einwirkung auf die Pflanzen keinen Einfluß auf das Muster aus; auch die Knospen blühten mit dem gleichen Muster auf wie in gewöhnlicher Kultur.

Die Temperaturen von 30—35° C griffen dagegen stark in die Musterbildung ein. Nach einem mehrtägigen Aufenthalt in diesen Temperaturen trugen die Pflanzen Blüten verschiedenster Musterung. Fig. 2 gibt als Beispiel einen Teil der Blüten wieder, die an einer Pflanze nach 9tägigem Aufenthalt im Thermostaten bei 30° C vorhanden waren. Die erste Blüte links oben war schon ausgewachsen und voll ausgefärbt, als die Pflanze in den Versuch genommen wurde. Solche Blüten ändern das Muster nicht mehr; sie können daher als Kontrollblüten dienen. Die zweite Blüte war bei Versuchsbeginn noch nicht voll entwickelt, sie gleicht im Muster und in der Färbung aber trotzdem noch der Kontrollblüte. Die folgende Blüte war bei Versuchsbeginn etwa $^1/_3$ ausgewachsen; sie unterscheidet sich von der ersten durch eine Auflockerung des Musters und vor allem durch die geringere Farbintensität. Alle anschließenden Blüten waren beim Einbringen der Pflanze in die hohe Temperatur noch wesentlich kleiner und änderten sich um so stärker, je jünger sie waren: die Zahl der Tupfen im Muster nahm kontinuierlich ab: zuletzt wurden nur noch rein gelbe Blüten erzeugt.

Wurden die Pflanzen aus den Thermostaten in niedrigere Temperatur zurückgebracht, so erschienen nach einiger Zeit wieder Blüten mit zuerst spärlicher, später mit stärkerer und endlich wieder mit der alten voll ausgebildeten Musterung.

Die Ausbildung des Farbmusters bei *Calceolaria hybrida* „getigert" wird also durch Temperaturen von 30° C und mehr gehemmt bzw. ganz unterbunden. Diese Abhängigkeit der Anthocyanbildung von der Temperatur zeigten alle behandelten getigerten Rassen gleichmäßig.

Sensible Periode für die Musterbildung.

Aus dem eben geschilderten Versuch geht hervor, daß die Blüten verschiedenen Alters durch die hohe Temperatur beeinflußt werden. Die genaue Messung der Blüten am Anfang und Ende der Reizung mit 30—35° C ergab folgendes: Hatte eine Knospe beim Einschalten der hohen Temperatur die Größe von 17—18 mm überschritten (1. und 2. Blüte in Fig. 2), so wurde das Muster durch die hohe Temperatur nicht mehr beeinflußt. Knospen, die bei Versuchsbeginn etwa 3 mm groß waren, bzw. diese Größe noch nicht erreicht

hatten, bildeten gar kein Muster aus, wenn man sie bis zum Erreichen einer Größe von 17—18 mm in der hohen Temperatur ließ (letzte und vorletzte Blüte in Fig. 2). An Knospen dazwischen liegender Größen konnten, wenn sie im Thermostaten die Größe von 17—18 mm erreichten, alle Übergänge vom ausgebildeten Farbmuster bis zum völligen Fehlen jeder Anthocyanbildung beobachtet werden, und zwar wurde um so mehr vom Muster ausgebildet, je größer die Knospen bei Versuchsbeginn waren. Nach Aufenthalt in hoher Temperatur, in der die Musterbildung unterdrückt wurde, wieder in normale Bedingungen zurückgesetzt, bildeten Blüten, die dann noch kleiner als 17—18 mm waren, erneut das Anthocyanmuster aus, und zwar um so stärker, je unentwickelter die Blütenknospen bei Rückversetzung in die normale Temperatur waren. Knospen, die in diesem Zeitpunkt erst 3—4 mm oder noch geringeren Querdurchmesser hatten, zeigten im voll erblühten Zustand das normale Muster der Kontrollblüte, während bei Knospen von mehr als 17—18 mm bei Herausnahme aus dem Thermostaten keine weitere Anthocyanbildung auftrat. Fig. 3 gibt Blüten einer Pflanze eine Woche nach Beendigung der Einwirkung der hohen Temperatur wieder; die Zahlen unter den Blüten geben die Größen der Knospen in Millimeter bei Herausnahme der Pflanze aus dem Thermostaten an. Die erste Blüte der Abbildung ist die Kontrollblüte.

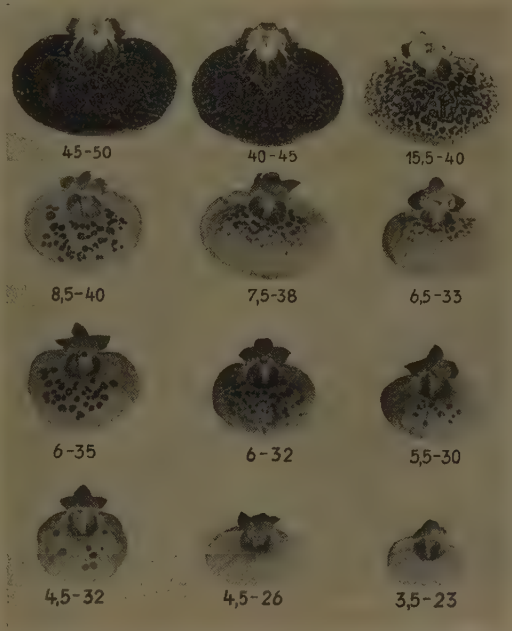


Fig. 2. Calceolaria hybrida „getigert". Musteränderung durch neuntägigen Aufenthalt in 30° C. Oberste Blüte links bei Versuchsbeginn schon voll ausgebildet, die übrigen in zunehmendem Maße jünger. Die Zahlen unter den Blüten geben den Durchmesser in Millimeter bei Beginn und Ende der Einwirkung der hohen Temperatur an.

Es ist also bei den Knospen ein ganz bestimmtes Entwicklungsstadium, eine sensible Periode, vorhanden, innerhalb derer sich die Musterbildung durch hohe Temperatur beeinflussen läßt. Ihre obere Grenze, von der an die Blüte nicht mehr beeindruckt werden

Fig. 3. Calceolaria hybrida „getigert". Rasse mit besonders kleinen Tupfen. Die Temperatur von 30° C wirkte 7 Tage auf die Blüten ein. Die Abbildung zeigt die Blüten 12 Tage nach Beendigung der Wärmeeinwirkung. Die Zahlen unter den Blüten geben die Größen der Knospen bei Rückversetzung der Pflanzen in die normale Temperatur an. Die erste Blüte ist die Kontrollblüte. Alle Blüten unterhalb bzw. bis zur Knospengröße 14 mm haben nach Beendigung der Wärmeexposition mit der Musterbildung begonnen bzw. sie fortgesetzt.

kann, liegt bei 17—18 mm und die untere, bei der die Sensibilität beginnt, bei 3—4 mm Knospengröße; diese Zahlen sind Mittelwerte aus Messungen an 48 Pflanzen. Die Lage der sensiblen Periode innerhalb der Knospenentwicklung war bei allen getigerten Rassen von *Calceolaria* gleich.

Eigenartigerweise fällt bei einigen *Calceolaria*-Sorten das Muster aber verschieden aus, je nachdem ob am Anfang des empfindlichen Stadiums hohe und am Ende niedrige Temperatur herrschte, oder ob es umgekehrt war. War die Temperatur anfangs niedrig und gegen Ende hoch, so entsteht ein Muster, das nur wenig Tupfen hat, die in

der Form aber kaum von den unter normalen Kulturbedingungen gebildeten abweichen. Unter gewöhnlichen Kulturverhältnissen besteht das Muster nämlich aus dicken Tupfen, die zu unregelmäßigen Linien zusammengeflossen sind und dadurch die „Tigerung" hervorrufen (Fig. 1). Sehr ähnlich, nur nicht ineinander geflossen, sehen die Tupfen aus, wenn die Knospen anfangs bei 20° und später bei 30° bzw. oberhalb 30° gehalten wurden (Fig. 2, 2. und 3. Querreihe). Bringt man aber eine Blüte vor dem völligen Ablauf der sensiblen Periode aus hoher Temperatur in niedrigere zurück, so daß also der erste Teil der sensiblen Periode in hoher, der zweite in niederer lag, so entsteht zwar auch nur eine geringe Anthocyanmusterung, aber die Tupfen sind in ihrer Flächenausdehnung viel kleiner als sonst[1]). Es liegt hier also der interessante Fall vor, daß der gleiche Temperaturreiz ein verschiedenes Ergebnis herbeiführt, je nachdem ob er im ersten oder im zweiten Teil der sensiblen Periode einwirkt. Es ist sogar möglich, beide Tupfenformen, die grobe und die feine, auf der gleichen Blüte hervorzurufen. Das gelingt dann, wenn man die Blüte zu Beginn der sensiblen Periode in normaler Gewächshaustemperatur hält (Determinierung der groben Tupfen), dann 36 Stunden in 30—35° C bringt (Unterdrückung weiterer Musterbildung) und schließlich während des Restes der empfindlichen Phase wieder in die normale Temperatur zurückversetzt (Determinierung der feinen Punkte). Fig. 4 zeigt eine solche Blüte.

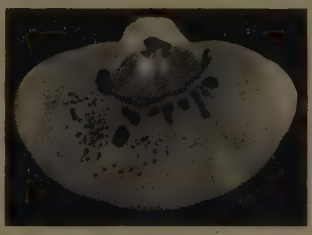


Fig. 4. Calceolaria hybrida „getigert". Die Blüte erhielt bei Beginn der sensiblen Periode 20° C, dann 36 Stunden 30—35° C, darauf wieder 20° C.

Die Bildung der feinen Punkte tritt niemals auf, wenn die Knospen während der gesamten Dauer ihrer sensiblen Periode in normaler Temperatur gehalten werden. Die Ausbildung der kleinen Punkte ist also ein Sonderfall, der nur nach vorausgegangener hoher Temperatur in Erscheinung tritt. Schon ein verhältnismäßig kurzer Aufenthalt zu Beginn der Sensibilität genügte aber, um die feine Punktierung hervorzurufen; und zwar trat sie dann — da durch den kurzen Aufenthalt bei 30—35° C nur eine sehr geringe Bremsung in der Musterbildung eintritt — u. U. so dicht und in so großer Zahl auf, daß die Punkte seitwärts verschmolzen und statt der Tigerung eine fast flächige Gesamtwirkung entstand.

Eine Hitzereizung der Knospen vor Beginn der sensiblen Periode war ohne Einfluß auf das Muster.

1) In Fig. 3 läßt sich das nicht erkennen, weil es sich hier um eine Pflanze mit schon an sich sehr kleinen Punkten handelt.

Durch Untersuchung zahlreicher unbehandelter, d. h. in normaler Gewächshaustemperatur sich entwickelnder Knospen wurde festgestellt, daß die Ausbildung des Musters stattfindet, während die Knospe von ca. 4 mm bis ca. 20 mm heranwächst. Somit fällt die sensible Periode ungefähr mit der Musterausbildung in der Knospe zusammen.

Die eben gemachte Feststellung über die Lage und Dauer der sensiblen Periode bezieht sich nur auf die Blüte in ihrer Gesamtheit. Die einzelnen Musterflecken haben dagegen jeder für sich oder doch in kleineren Komplexen zu mehreren eine selbständige und kürzere sensible Periode. Das ergibt sich u. a. daraus, daß unter gewöhnlichen Kulturbedingungen die Ausbildung der einzelnen Musterflecken nicht in allen Teilen der Blüte gleichzeitig einsetzt, sondern die Tupfen in ziemlich gleichmäßigem Rhythmus nacheinander erscheinen. Manche Zellkomplexe müssen also ihre sensible Periode schon durchwachsen haben, wenn andere dazu noch in Bereitschaft sind. Die verschiedenen Zellkomplexe haben also ihre eigenen sensiblen Perioden. Die Dauer der sensiblen Perioden für die einzelnen Flecken muß sehr kurz sein; denn in der Zeit, während der eine Knospe in gewöhnlicher Kultur um 1—2 mm an Größe zunimmt, tritt eine Reihe von Farbflecken neu zu dem Muster hinzu; diese Farbflecken müssen also auch innerhalb der Zeitspanne der Größenzunahme der Knospe um 1—2 mm ihre sensible Periode durchwachsen haben. Da Knospen von 5 mm Durchmesser bei 30—35° C täglich etwa 1 mm, solche von 8—9 mm bis zu 8 mm Zuwachs haben, so muß die sensible Periode für die einzelnen Areale also sehr kurz sein.

Ein anderer Beweis für die Kürze der sensiblen Periode der einzelnen Zellkomplexe ist die Tatsache, daß bei einem nur halbtägigen Aufenthalt einer Pflanze in der Temperatur von 30—35° C Blüten auftreten, bei denen gewisse, ziemlich große Areale dauernd anthocyanfrei bleiben.

Wiederholt traten bei verschiedenen *Calceolaria*-Rassen an mit Hitze behandelten Blüten Musterbildungen auf, die eine Gesetzmäßigkeit für die Nacheinanderfolge des Eintritts der verschiedenen Zellkomplexe in die sensible Periode vermuten ließen. Je nachdem in welchem Abschnitt der sensiblen Periode der Reiz erfolgte, erhielten bestimmte Teile der Blüte eine Musterung, während andere Teile anthocyanfrei blieben. Zum Beispiel bildete sich bei Blüten der Pflanze AK3W (Fig. 5), die den ersten Abschnitt der sensiblen Periode in hoher und den restlichen Teil in normaler Temperatur verbrachten, nur am oberen Teil der Blüte zu beiden Seiten des Schlundes und auf den schmalen Lippen eine Zeichnung aus (Nr. 1 und 2 in Fig. 5). Waren die Blüten bei Reizende noch sehr klein, so daß also der größere Teil der sensiblen Periode in normaler Temperatur ablief, dann griff die in normaler Temperatur einsetzende Musterung von beiden Seiten allmählich zur Mitte über (Nr. 3 und folgende in Fig. 5). Beispiele

für das gleichsinnige Verhalten einer anderen Rasse gibt Fig. 3. Diese Beobachtung einer vielleicht vorliegenden Gesetzmäßigkeit in der Musterentwicklung und damit gekoppelt einer Gesetzmäßigkeit für die Nacheinanderfolge des Eintritts verschiedener Zonen der Blüte in die sensible Periode konnte wegen Mangels an erbgleichen Pflanzen jedoch noch nicht befriedigend gesichert werden.

Wenn man bei *Calceolaria* die Musterbildung auf der Oberseite der pantoffelförmigen Blüte und auf ihrer Rück- und Unterseite genau verfolgt, so findet man, daß die sensible Periode für die Musterbildung auf der Unterseite enger begrenzt ist als für die der Ober-

Fig. 5. Calceolaria hybrida „getigert". Die Zahlen unter den Blüten geben die Blütengröße am Anfang bzw. am Ende der Expositionszeit in der Temperatur von 35° C an. — Expositionszeit: 19. IV.—27. IV. 38, phot. am 3. V. 38. Erklärung im Text.

seite. Für die Oberseite — auf die sich alle bisher besprochenen Versuche bezogen — begann, wie oben festgestellt wurde, die Sensibilität bei Knospen von 3 mm Durchmesser und endigte bei 18 mm; für das Muster der Unterseite trat die Empfindlichkeit dagegen erst bei 9 mm Knospendurchmesser ein und endigte bereits bei 12 mm.

b) Einwirkung der Temperatur auf diffuse Flächenfärbung.

Bei einigen Rassen von *Calceolaria hybrida* „getigert" haben die Blüten außer dem Anthocyanmuster auch noch eine mehr oder weniger starke Anthocyanausbildung in allen Zellen der Blütenepidermis. Die außerhalb des Musters sonst hellen Blüten bekommen dadurch eine bräunliche bis rote Färbung. Bei gewissen Pflanzen war diese diffuse Färbung so stark, daß die Blüte einfarbig dunkelrot erschien; erst als durch Einwirkung erhöhter Temperatur auf unentwickelte Blüten die diffuse Anthocyanausbildung unterblieb, wurde auch hier das typische

getigerte *Calceolaria*-Muster sichtbar. Abb. 6 gibt Blüten einer Pflanze wieder, die aus normaler Temperatur für sieben Tage in 35° C gebracht worden war und seitdem wieder 5 Tage in gewöhnlicher Temperatur stand. Die ersten beiden Blüten hatten bei Beginn der Einwirkung der hohen Temperatur ihre sensible Periode schon hinter sich, sie sind daher „normal" dunkelrot. Bei den folgenden war dagegen das sensible Stadium noch nicht beendigt, und zwar zeigt das Verhalten dieser Blüten, daß es für die Musterbildung und die diffuse Färbung zwei

Fig. 6. Calceolaria. Rückgang der diffusen Färbung und Hervortreten des Tigermusters durch vorübergehenden Aufenthalt in 35° C; weitere Erklärung im Text. Expositionszeit in 35° C: 16. V.—22. V. 38, phot. am 1. VI. 38.

verschiedene sensible Perioden geben muß. Für die Musterbildung war bei den in der Abbildung auf die einfarbigen Blüten folgenden Beispielen das sensible Stadium schon ganz oder doch weitgehend durchwachsen, sie bildeten daher das normale oder fast vollständige Muster aus. Die Ausbildung der diffusen Färbung hatte jedoch erst schwächer, bzw. bei Knospen, die kleiner als 10 mm waren, noch gar nicht eingesetzt und wurde ebenso wie die Musterbildung in der hohen Temperatur unterdrückt. Sämtliche Blüten der beiden unteren Querreihen der Abb. 6 hatten bei Reizende hellgelbe Grundfärbung. Wieder in gewöhnliche Temperatur zurückversetzt, setzte bei ihnen, soweit sie

ihre sensible Periode für die Musterbildung noch nicht beendet hatten, letztere wieder ein. Daneben bildete sich bei diesen Blüten die diffuse Flächenfärbung aus, und zwar um so intensiver, je unentwickelter die Blüten waren. Aus der genauen Messung ergab sich (wie es übrigens auch aus der Abb. 6 ersichtlich ist), daß Blüten, die in der hohen Temperatur eine Größe von 30 mm erreicht hatten, nachher in der normalen Temperatur keine diffuse Färbung mehr ausbildeten. Solche Knospen, die am Ende der Hitzeperiode 10 mm Größe noch nicht überschritten hatten, entwickelten dagegen die volle Flächenfärbung. — Es liegt also für diese diffuse Färbung eine sensible Periode vor, die zeitlich die sensible Periode für die Musterbildung überschneidet. Sie beginnt bei der Knospengröße von 10 mm und erlischt bei 30 mm Knospendurchmesser; sie setzt also später ein, dehnt sich dafür aber auch auf größere Knospen aus.

Wie bei der Musterung fällt auch hier in der Grundfärbung die sensible Periode zeitlich ungefähr zusammen mit der Entwicklungsphase der Knospe, in welcher sie bei normalen Gewächshaustemperaturen den Farbstoff ausbildet. Und zwar treten hier alle Zellen fast gleichzeitig in die sensible Periode ein. Der Unterschied zwischen solchen Blüten, die einen größeren Teil, und solchen, die einen geringeren Teil ihrer sensiblen Periode in niederer Temperatur verbrachten, zeigt sich in einer stärkeren, bzw. geringeren Intensität der diffusen Färbung. Bestimmte Zonen der Blüte sind also bei der Flächenfärbung nicht sichtbar bevorzugt.

Durch geeignete Temperaturverteilung lassen sich an einer Pflanze dieses Typs Blüten vierfach verschiedenen Aussehens erzeugen: dunkelrote Blüten mit verdeckter Musterung, wenn beide sensible Perioden in niedriger Temperatur verbracht werden; Blüten mit „Tigerung“ auf gelbem Grund, wenn die Knospen während des ersten Teils der sensiblen Periode für die Musterung niedriger Temperatur ausgesetzt waren und während der ganzen sensiblen Periode für diffuse Färbung sich in hoher Temperatur befanden. Einen dritten und vierten Blütentyp mit vollkommener Unterdrückung des Musters erhält man durch Einwirkung hoher Temperatur während der Sensibilität für die Musterbildung: werden dabei die Knospen, nachdem sie 18 mm und bevor sie 30 mm Durchmesser erreicht haben, wieder in niedere Temperatur zurückversetzt, so bilden die Blüten nur den diffusen Farbstoffüberzug aus; verbleiben sie aber auch während dieser Zeit in der hohen Temperatur, so daß die Hitze während beider sensibler Perioden einwirkt, so erhält man rein gelbe Blüten.

2. Einfluß anderer Faktoren.

Lichtschwächung machte sich selbst bei 60%igem Entzug des Lichtes weder auf die Musterbildung noch auf die Intensität der Färbung

bei keiner der behandelten Rassen bemerkbar. (Die Kulturen standen im Tageslicht; die höchste Lichtintensität, die die schattierten Pflanzen mittags erhielten, betrug ca. 6000 Lux.)

Auch Luft- und Bodenfeuchtigkeit, Bodentrockenheit, Mangel an Bodensalzen, teilweises Entblättern der Pflanze übten keinen Einfluß auf die Musterbildung und die Farbstoffmenge aus. Ebenso schieden „innere" Faktoren, wie Alter und schlechter Zustand der Pflanzen aus.

II. Calceolaria hybrida „getuscht".

Calceolaria hybrida „getuscht" hat auf der Ober- und Rückseite einen großen dunkelrot bis violett gefärbten, wie Tusche wirkenden Anthocyanfleck. Der übrige Teil der Blüte ist von Carotinoiden gelb gefärbt. Bei allen Rassen bewirkte die Temperatur von 35° ein Verblassen des Tuschflecks; ein letzter schmutzig rosa Farbton konnte jedoch nicht zum Verschwinden gebracht werden. — Die Ausbildung des Tuschflecks begann in der Knospe im allgemeinen bei 4 mm und war bei 20 mm Größe beendet. Die sensible Periode für die Einwirkung hoher Temperatur auf die Ausbildung des Tuschflecks fiel in das gleiche Größenstadium. Die Abnahme des Tuschflecks erfolgte durch gleichmäßige und gleichzeitige Unterdrückung der Anthocyanbildung in allen Zellen des Tuschflecks, alle Zellen des Tuschflecks treten also zur selben Zeit in die sensible Periode ein.

Bei einer bestimmten Rasse wurde eine sonderbare Nachwirkung der hohen Temperatur festgestellt: nachdem die Pflanzen aus der Temperatur von 35° C wieder in normale Bedingungen zurückversetzt worden waren, trat bei nicht zu alten Blüten eine abnorme Ausdehnung des roten Tuschflecks über die ganze Blüte auf. Die gelbe Färbung der Blüte wurde nicht sichtbar, sondern diejenigen Areale, die sonst nur von gelben Carotinoiden eingenommen werden, bildeten Anthocyan aus, so daß die Blüten einfarbig rot bis violett gefärbt waren.

Eine Vergrößerung der durch Anthocyan gefärbten Areale trat auch bei Pflanzen dieser Rasse auf, wenn sie einer nur auf 25—30° C erhöhten Temperatur ausgesetzt worden waren; in diesem Fall aber schon während der Exposition.

Leider konnte diese interessante, durch die Temperatur induzierte Ausbreitung des Tuschflecks wegen Materialmangels nicht näher untersucht werden.

Cheiranthus Cheiri.

An dem Blütenstand einiger Goldlacksorten sind neben den gewöhnlich tief dunkelrot bis rotbraun gefärbten Blüten häufig hellbraune bis gelbe Blüten zu finden.

1. Einfluß der Temperatur.

Um zu prüfen, ob die verschieden starke Anthocyanbildung in den Blüten durch Temperatureinflüsse hervorgerufen werden kann,

wurden Gruppen von je 10 Pflanzen[1]) unter gleichen Lichtverhältnissen im Gewächshaus bei konstanten Temperaturen von 20° C, 25° C und 30° C in Glasthermostaten kultiviert. Die drei Gruppen zeigten nach dreiwöchiger Kultur untereinander und im Vergleich mit den Kontrollen, die den gleichen Lichtintensitäten, aber der schwankenden Tag- und Nachttemperatur des Kalthauses ausgesetzt waren, keinen Unterschied in der Blütenfärbung. — Die Temperatur schied also als modifizierender Faktor aus.

2. Der Einfluß des Lichtes.

Dagegen traten schon nach einigen Tagen bei bisher rotblütigen Pflanzen, die in einem Zimmer in 3 m Abstand von einem Südfenster so aufgestellt wurden, daß sie in gedämpftem diffusen Licht standen, Blüten auf, die hellbraun gefärbt waren. Nach einigen weiteren Tagen erschienen rein gelbe Blüten. — Eine Pflanzengruppe, die gleichzeitig direkt am Fenster stand und starkes Licht und Sonne erhielt, bildete unverändert dunkelrote Blüten.

Die bisher im diffusen Licht gehaltenen Pflanzen wurden jetzt in normale Lichtverhältnisse ins Gewächshaus zurückversetzt. Die aufgeblühten hellbraunen und gelben Blüten veränderten ihre Farbe an diesem neuen Standort nicht mehr. Auch die sich in den ersten Tagen nach der Rückversetzung ins helle Licht neubildenden Blüten waren noch gelb; dann erschienen aber bräunliche, kupferrote und schließlich wieder tief dunkelrote Blüten.

Die Ursache der verschieden stark ausgebildeten Anthocyanfärbung ist also eindeutig das Licht.

Um festzustellen, ob der Einfluß des Lichtes etwa über die Laubblätter wirksam ist, oder ob das Licht direkt auf die Knospen wirkt, wurden einzelne jüngere Knospen mit stark schattierendem weißen Papier verdeckt, während das Laub also dem vollen Licht ausgesetzt blieb. Nach einigen Tagen blühten die schattierten Knospen mit hellbrauner und später nur noch mit gelber Färbung auf. Der Einfluß des Lichts in bezug auf die Anthocyanbildung erfolgte also auf die Knospe direkt.

a) Lichtintensität.

Um klarzustellen, ob die Lichtmenge oder die Lichtintensität allein die Anthocyanausbildung bestimmt, wurden Pflanzengruppen bei konstantem Licht verschiedener Intensität kultiviert. Als Lichtquelle wurde eine 2000 Watt-Osramlampe benutzt.

1) Die Pflanzen wurden auf dem Markt gekauft, ihre Sortenzugehörigkeit läßt sich leider nicht angeben.

Die Versuchsergebnisse sind aus Tab. 1 ersichtlich. Bei täglich 12stündiger Beleuchtung mit 20000 Lux wurde die tief dunkelrote Farbe der Blüten und damit die volle Anthocyanausbildung erreicht. Mit Abnahme der Lichtintensität nahm die Anthocyanausbildung in den Blüten ab, so daß sich die Färbung über tief dunkelrot, kupferrot, mittelbraun und hellbraun bis gelb änderte. Diese Abnahme des Anthocyans erfolgte aber nicht in allen Zellen der Blumenkrone gleichmäßig. Zuerst wurde der äußere Rand der Blütenblätter völlig frei von Anthocyan, während die Basis der Blütenblätter und die Zellen um die Leitbündel noch Anthocyan führten; erst bei 500 Lux wurde nirgends mehr Anthocyan ausgebildet (vgl. Tab. 1). Beleuchtung mit 300 Lux reichte nicht mehr aus, die Knospen zum Öffnen zu bringen.

Tabelle 1.
Cheiranthus Cheiri.

Tägliche Beleuchtungsdauer i. Std.	Lichtintens. in Lux	Blütenfärbung
5	6000	Adern und Basis der Blütenbl. braun, Randzone gelb, sonst hellbraun
12	20000	gleichmäßig tiefdunkelrote Blüten
12	10000	gleichmäßig kupferrote Blüten
12	5000	fast gleichmäßig mittelbraune Bl.
12	4000	fast gleichmäßig mittelbraune Bl.
12	2000	Basis und Adern der Blütenblätter braun, Randzone gelb, sonst hellbraun
12	1500	Basis und Adern der Blütenblätter braun, Randzone gelb, sonst hellbraun
12	1000	Basis und Adern der Blütenblätter braun, Randzone gelb, sonst hellbraun
12	500	Blüten reingelb

Fünfstündige tägliche Beleuchtung mit 6000 Lux bewirkte Anthocyanbildung an der Basis und um die Gefäße der Petalen, während 12-stündige Beleuchtung mit 5000 Lux eine stärkere Anthocyanbildung zur Folge hatte, die sich auf sämtliche Zellen der Blütenblätter ausdehnte und diesen eine mittelbraune Tönung gab. Es ist also nicht die Lichtintensität allein von Einfluß auf die Anthocyanbildung in den Blütenblättern, sondern auch die Belichtungszeit. Die Versuchsergebnisse lassen vermuten, daß gleiche Lichtmengen — so sei das Produkt aus Lichtintensität in Lux und täglicher Belichtungszeit in Stunden bezeichnet — gleiche Anthocyanbildung hervorrufen: So hatten Knospen bei 5-stündiger Beleuchtung mit 6000 Lux fast die gleiche Tönung wie bei 12-stündiger Einstrahlung von 2000 Lux.

b) Gesamtlichtmenge.

Zur Erhärtung der Schlußfolgerung über die Bedeutung der Lichtmenge wurde ein Versuch angesetzt, in welchem 28 Pflanzen täglich verschieden lange verschiedenen Lichtintensitäten derart ausgesetzt wurden, daß die Gesamtlichtmenge in Luxstunden, welche die Pflanzen erhielten, bei allen Pflanzen einer Serie gleich war. Als Lichtquelle diente wieder eine 2000 Watt-Osramlampe. Es wurden 3 Pflanzenserien aufgestellt, bei denen die Gesamtlichtmengen 100000, 50000 und 10000 Luxstunden zur Anwendung kamen (Tab. 2). Nach Ablauf der täglichen Expositionszeit wurden die Pflanzen durch Überstürzen von Dunkelhauben verdunkelt. Der Versuch lief vom 16.5. bis 2.6. 1939; jede Serie bestand aus 8—10 Pflanzen. Bei Versuchsbeginn wurden alle Knospen, welche schon in die sensible Periode (vgl. S. 38) eingetreten waren, entfernt.

Tabelle 2.
Cheiranthus Cheiri.

Gesamtlichtmenge in Luxstunden	Lichtintensität in Lux	Tägliche Beleuchtungsdauer (Stunden)	Blütenfärbung	Bemerk.
100000	20000	5	tiefdunkelrot	Blüten normal, kräftig
	10000	10	desgl.	
	6000	15	desgl.	
	5000	20	desgl.	
50000	20000	2,5	dunkelbraun, die Blattspitzen reingelb	Blüten kleiner als normal
	10000	5		
	5000	10	desgl.	
	3300	15	desgl.	
	2000	20	desgl.	
10000	10000	1	Blüten gelb, an der Basis ein verschwindend kleines, braunes Saftmal	Blüten klein, Gewebe hauchdünn
	5000	2		
	1000	10	desgl.	
	500	20	desgl.	

Der Versuch ergab folgendes: Alle Pflanzen, die gleiche Lichtmengen erhielten, zeigten in der Blütenfärbung ein einheitliches Bild. Die Lichtmenge von täglich 100000 Luxstunden bewirkte dieselbe tief dunkelrote Färbung, wie sie die Kontrollen im vollen Tageslicht bei guter Witterung zeigten. Die Blüten hatten normale Größe, und das Blütengewebe war kräftig. Die Pflanzen, denen täglich 50000 Luxstunden geboten wurden, trugen dunkelbraune Blüten, die sämt-

lich in der Mitte des äußeren Randes der einzelnen Blütenblätter eine gelbe Einbuchtung aufwiesen. Dieser gelb gebliebene Teil der Blüte bedarf also hiernach zur Anthocyanbildung einer größeren Lichtmenge. Bei der Serie mit 10000 Luxstunden waren die Blütenblätter klein und das Blütengewebe sehr dünn; die Blütenfärbung war gelb mit nur einem verschwindend kleinen, braunen Saftmal am Grunde der Petalen.

Dieser Lichtmengenversuch zeigt also eindeutig, daß die Färbung der Blüten durch die Gesamtlichtmenge und nicht durch die Intensität des Lichtes allein bestimmt wird. Ferner geht aus ihm hervor, daß der Lichtbedarf für die Anthocyanbildung nicht für alle Zellen der Blütenblätter gleich ist. An der Basis der Petalen genügt schon eine relativ geringe Lichtmenge, um die Anthocyanbildung auszulösen; mit Zunahme der einwirkenden Lichtmenge schreitet dann die Anthocyanbildung vom Grunde der Blütenblätter aus fort, bis schließlich auch der äußerste Rand ausgefärbt ist.

c) Sensible Periode.

Oben wurde schon berichtet, daß Pflanzen, die aus guten Lichtverhältnissen in stark geschwächtes Licht gebracht werden, auch hier noch kurze Zeit unverändert dunkelrote Blüten bilden, daß aber später Blüten mit bräunlicher Färbung und schließlich rein gelbe Blüten auftreten. Auch bei Rückversetzung der Pflanzen in gute Lichtverhältnisse bildeten sich zuerst noch gelbe Blüten, dann traten bräunliche und endlich wieder tief dunkelrote auf. Aus diesem Befund geht hervor, daß die Knospen bis zu einem gewissen jugendlichen Stadium und auch wieder von einem gewissen älteren Stadium ab in Bezug auf die Blütenfärbung gegen die Lichtintensität indifferent sein müssen.

Es galt nun, das empfindliche Stadium der Knospe, in welchem das Licht die Färbung determiniert, durch Ermittlung der Größe der Knospe am Anfang und Ende dieser Periode festzustellen. Die untere Grenze der sensiblen Phase muß sich aus der Länge der größten Knospe ergeben, die bei Übertragung aus starkem Licht in schwaches (500 Lux bei 12-stündiger Einwirkung) als rein gelbe Blüte aufblüht. Ihre obere Grenze muß aus der Größe der kleinsten Knospe resultieren, die nach Umsetzen in das schwache Licht noch tief dunkelrot aufblüht. Die untere Grenze wurde mit 8—10 mm, die obere mit 12 bis 16 mm Knospenlänge gefunden. Die Sensibilität hält also nur kurze Zeit an. Die Streuung der Werte beruht wahrscheinlich zum Teil auf dem verschiedenen Verhalten der Individuen der Population, mit welcher die Versuche durchgeführt wurden.

Tabelle 3.

Zur Bestimmung der Knospengrößen am Anfang und Ende der sensiblen Periode bei Cheiranthus Cheiri.

Knospenlängen bei Versuchsbeginn mm	Färbung der aufgeblühten Blüten, die während der Versuchsdauer 6000 Luxstunden tägl. erhalten (500 Lux × 12 Std.)
15	einheitlich rot
14	braunrot
13	Blütenblattbasis gelb, übrige Blattspreite bräunlich rot
11	gelb, nur äußerer Rand bräunlich rot
< 10	rein gelb

Wie aus der Zusammenstellung in Tab. 3 hervorgeht, zeigten Blüten, die das Ende ihres sensiblen Stadiums in der Lichtintensität von 500 Lux durchwuchsen, vorwiegend eine Anthocyanentwicklung an den äußeren Rändern der Blütenblattspreiten, während die Blattbasen gelb blieben; d. h. der äußere Rand der Blattspreite war bei Beginn des Versuches schon in das sensible Stadium eingetreten und hatte bereits Farbstoff gebildet, während der übrige Teil der Blüte noch nicht für den Lichtreiz sensibel war. — Verbrachte andererseits die Blüte den Anfang ihrer sensiblen Periode in 500 Lux und das Ende in starkem Licht, so wurde ebenfalls im äußeren Rand der Petalen Anthocyan ausgebildet. Das bedeutet, daß die äußere Randzone der Blütenblattspreite, die nach Obigem zuerst in die sensible Periode eintritt, auch der Teil des Blütenblattes ist, der am längsten sensibel bleibt.

Die Beobachtungen über den verschiedenen Eintritt der Zellen der Blütenblattspreite in die sensible Periode bedürfen zur völligen Sicherstellung jedoch noch eines Versuches größeren Umfanges, da wegen Materialmangels nur mit wenigen Pflanzen gearbeitet werden konnte.

In der unter normalen Gewächshausbedingungen aufwachsenden Knospe wird bei ca. 10 mm Knospengröße die Anthocyanbildung sichtbar; bei 16 mm Knospengröße ist die Farbe der Blütenblätter dunkelbraun bis dunkelrot, und der Samtglanz der fertigen Blüte tritt erst bei 20 mm Knospengröße auf. Die Anthocyanbildung erscheint zuerst am Rand und schreitet allmählich zur Basis der Blütenblätter fort. Bei 13—14 mm brechen die Blütenblätter aus den Knospen hervor, um sich aber erst bei der Gesamtknospenlänge von 20 mm zu entfalten.

Die sensible Größe fällt also ungefähr mit der Anthocyanbildung in den Knospen zusammen.

d) Chemismus.

Die Anthocyanbildung im sensiblen Stadium der Goldlackknospe beruht auf Reduktion von Flavonol zu Anthocyan. In den gelben Blüten, die ihre sensible Periode in stark geschwächtem Licht durchwuchsen, ließ sich neben zahlreichen Chromatophoren Flavonol nachweisen. Letzteres geschah sowohl durch die Reduktionsmethode von Noack[1]) als auch durch den Kleinschen Mikrotest[2]). Flavonol konnte

1) Das zu untersuchende gelbe Blütengewebe wurde in 30%igem Alkohol nach Zugabe einiger Tropfen HCl conc. in der Hitze hydrolysiert. Nach Reduktion mit Magnesiumspänen tritt eine Rotfärbung des Gewebes infolge der Bildung von Oxoniumsalzen ein, wenn in den Blüten Flavonol vorhanden ist.

2) Nach Klein lassen sich Flavonole nach Behandlung mit HCl-Dämpfen als

auch in unentwickelten Blütenblättern vor Eintritt in die sensible Periode festgestellt werden. Da vor und nach der sensiblen Periode die Reduktion des Flavonols nicht stattfindet, liegt das Besondere der sensiblen Periode also in der Fähigkeit der Zellen, in dieser Entwicklungsphase bei Lichtzutritt die Reduktion durchzuführen.

IV. Viola tricolor.

Von GOEBEL (1908) und SCHRÖDER (1934) liegen schon Versuchsergebnisse über den Einfluß der Temperatur auf das Blütenmuster bei *Viola tricolor* vor. SCHRÖDER stellte bei der Stiefmütterchensorte „Feuerkönig" fest, daß das Anthocyan, das in den beiden oberen Petalen auf der ganzen Fläche und in den drei unteren Petalen in einem breiten Randfeld ausgebildet ist, in der Temperatur von 30° C zurückgedrängt wird und schließlich ganz verschwindet. Das „Gesicht", wie die typischen großen, zentralen Flecken der Stiefmütterchenblüte bezeichnet werden sollen, die an der Basis der drei unteren Petalen gewöhnlich sehr stark, an den beiden oberen dagegen oft nur in Andeutung vorliegen, änderte sich unter dieser Temperatur aber nicht.

Unterdrückung der Anthocyanbildung durch höhere Temperatur kann, wie die folgenden Versuche zeigen werden, auch bei anderen Stiefmütterchensorten sowohl im Freiland wie im Laboratoriumsexperiment beobachtet werden. In einer Sammlung von 50 Stiefmütterchenrassen reagierten die Sorten „Kardinal", „Rotkäppchen", „Alpenglühen", „Goldlack" und „Nordlicht" ähnlich. Bei den vier ersten Sorten ist in allen Papillen der oberseitigen Blütenblattepidermis Anthocyan ausgebildet, so daß die Blüten, wenn sie sich in Temperaturen bis zu 20° C entwickelt haben, fast einfarbig erscheinen: das „Gesicht" hebt sich nur durch eine etwas dunklere Tönung heraus. Bei „Nordlicht" werden dagegen — wie bei „Feuerkönig" — nur die beiden oberen Petalen ganz, die drei unteren hingegen nur in einem breiten Randfeld von Anthocyan eingenommen (vgl. Abb. 7, *1*), so daß zwischen Gesicht und Randfeld eine gelblichweiße Zone ausgespart ist. Wie bei „Feuerkönig" konnte die Anthocyanbildung des Gesichts bei keiner der angeführten Stiefmütterchensorten durch Temperatureinwirkung wesentlich beeinflußt werden. Die Anthocyanbildung an diesen Stellen war also offenbar unabhängig von der Anthocyanbildung der Randfelder.

---

wasserunlösliche gelbe Chlorhydratkristalle nachweisen: Das zu untersuchende Blütengewebe wird mit etwas Wasser auf ein Deckglas gebettet; darauf läßt man über einem Destillationsring mit einigen Tropfen HCl conc. Salzsäuredämpfe bei 35° C 20 Minuten lang auf das Blütengewebe einwirken. Flavonolkristalle sind dann als gelbe Kristalldrusen oder als gelbe garbenförmige Kristallaggregate unter dem Polarisationsmikroskop sichtbar.

Da die Stiefmütterchensorten „Kardinal", „Rotkäppchen", „Alpenglühen", „Goldlack" und „Nordlicht" auf Außenfaktoren gleichsinnig reagierten, seien hier nur die Untersuchungen an „Nordlicht" genauer wiedergegeben. Die Versuche wurden an ziemlich einheitlichem Sämlingsmaterial aus Saatgut der Firma Gebr. Dippe A. G., Quedlinburg, durchgeführt. — Die Pflanzen wurden, nachdem sie in Freilandkultur gut

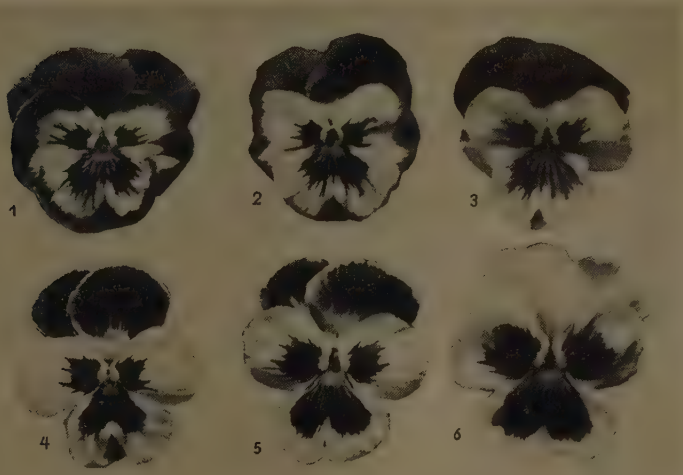


Fig. 7. Viola tricolor „Nordlicht". Die Blüten entstammen zwei verschiedenen Pflanzen (die Blüten der obersten Reihe gehören zu einer, die der unteren zu einer anderen Pflanze); sie veranschaulichen die Unterdrückung des Blütenfarbmusters bei der Temperatureinwirkung von 30° C während der sensiblen Periode. Die Blüten sind nach der Größe ihrer Knospen bei Beginn der Temperatureinwirkung geordnet und mit den Nummern der Scheckungsskala versehen. Die erste Blüte links oben hatte zu Beginn der Temperatureinwirkung bereits die sensible Periode durchwachsen; die letzte Blüte rechts unten hat fast ihre ganze sensible Periode in der Temperatur von 30° C zugebracht.

durchgewurzelt waren, in Glasthermostaten im Versuchsgewächshaus der Temperatur von 30° C ausgesetzt. Das Blütenfarbmuster wurde durch Einzeichnen der ausgefärbten Areale in einen Stempelvordruck, durch Photographieren oder durch Einordnen in eine Scheckungsskala protokolliert. Die Scheckungsskala bestand aus 6 Stufen, deren Nummern in Abb. 7 eingetragen sind; Scheckungsgrad 1 bedeutet also volle Anthocyanausbildung im Umfeld, Scheckungsgrad 6 völliges Fehlen des Anthocyans im Umfeld.

Die bei Versuchsbeginn bereits vorhandenen Blüten änderten ihr Farbmuster in der hohen Temperatur nicht mehr. Auch die Knospen, die sich in den ersten Tagen öffneten, zeigten das normale Muster. Bei den weiterhin auftretenden Blüten waren dann aber die von Anthocyan eingenommenen Areale verkleinert, und schließlich erschienen nur noch Blüten, die außer der Gesichtszeichnung keine Anthocyanbildung aufwiesen (Abb. 7). Wurden die Pflanzen wieder in eine Temperatur unter 20° C gesetzt, so trat allmählich bei neu auftretenden Blüten wieder die Zeichnung der Randfelder auf, bis die volle Musterung der Ausgangsblüte wieder erreicht war.

Tabelle 4.
Viola tricolor „Nordlicht". Knospengrößen am Anfang und Ende der Exposition in hohe Temperatur (30° C).

Nr.	Länge der Knospen zu Beginn d. Exposition mm	Länge der Knospen am Ende d. Exposition mm	Typus d. Blütenmusters beim Aufblühen d. Knospe (s. Abb. 7)
1	17	Knospe schon geöffnet	1
2	15	desgl.	1
3	14	desgl.	1
4	12	desgl.	2—3
5	10	desgl.	4
6	9	desgl.	3,5
7	8	desgl.	4,5
8	8	desgl.	4,5
9	7,5	desgl.	3
10	6	desgl.	4
11	5,5	desgl.	4
12	5	17	5,5
13	5	13	6
14	4	14	6
15	4	13	6
16	3	12	5
17	3	8	4
18	3	9	4
19	3	14	6
20	3	12	5
21	2	12,5	5
22	1,5	11	4—5
23	1	5,5	2
24	1	9	4,8

Knospenmessungen am Anfang und Ende der Exposition in der hohen Temperatur ergaben, daß nur solche Knospen sich zu Blüten mit völlig anthocyanfreien Umfeldern entwickelten, welche die Knospenlängen von 4 bis 13 mm in der hohen Temperatur durchwachsen hatten (die Grenzen streuten individuell um ± 2 mm); vor und nach diesem Entwicklungsstadium waren die Knospen in bezug auf die Farbmusterbildung gegen Temperaturreize unempfindlich. Die sensible Periode liegt also in der Knospengröße von 4 bis 13 mm.

Nicht alle Zellen der Blütenblätter traten gleichzeitig in die sensible Periode ein. Wie aus den in Abb. 7 und Tab. 4 zusammengestellten Fällen hervorgeht, zeigten solche Blüten, die den ersten Teil der sensiblen Periode in niederer, den anderen Teil in hoher Temperatur verbrachten (Nr. 4 der Tabelle, Nr. 2 der Abbildung), auf den drei unteren Petalen eine starke

Verschmälerung der Randzeichnung. Bei Blüten, die in einem etwas früheren Stadium der sensiblen Periode der hohen Temperatur ausgesetzt wurden (Nr. 5 der Tabelle, Nr. 4 der Abbildung), trat Anthocyanbildung nur in den beiden oberen Petalen und in dem unteren Kronblatt in stark reduzierter Form auf. Bei Temperatureinwirkung in noch früherem Stadium fehlte in den drei unteren Petalen jegliche Musterbildung. Auf den beiden oberen Petalen begann jetzt der Farbstoff sich zum Rande hin zurückzuziehen. Wenn schließlich die ganze sensible Periode in der hohen Temperatur verlief, so entwickelte sich die Knospe zu einer Blüte, die mit dunklem Gesicht und gelblich-weißem Umfeld dem bekannten Stiefmütterchen „Eiskönig" ähnlich sah.

Das Zurückweichen des Anthocyans verlief immer in der gleichen Weise, woraus man Aufschluß über den Eintritt der verschiedenen Zonen der Blüte in die sensible Periode erhält: Zuerst treten die Randgebiete der beiden oberen Petalen in die sensible Periode, die von weiter zentral gelegenen Gebieten dieser beiden Petalen gefolgt werden. Als nächste Zone wird die untere Spitze des unteren Petalum für die Temperatur sensibel. Dann folgen die übrigen Randfelder auf den drei unteren Petalen.

Wurden Pflanzen, die längere Zeit der hohen Temperatur ausgesetzt waren, so daß sie nur noch weiße Blüten mit dunklem Gesicht erzeugten, in niedere Temperatur zurückversetzt, so erschienen bald Blüten mit Anthocyanbildung in den oberen Petalen. Erst später traten Blüten mit Zeichnung auch in den anderen Blütenblättern auf. Das bedeutet aber, daß die beiden oberen Petalen in bezug auf die Blütenfärbung auch noch am Ende der sensiblen Periode der Gesamtblüte gegen Temperatureinflüsse empfindlich sind, während die übrigen Zonen schon wieder indifferent sind. Ähnliche Verhältnisse wurden schon bei der sensiblen Periode des Goldlacks gefunden (S. 80).

Die sensible Periode für die Farbstoffausbildung fällt mit dem Stadium der Knospe, in welchem bei normaler Entwicklung der Farbstoff ausgebildet wird und in Erscheinung tritt, ungefähr zusammen. Auch die Ausfärbung des „Gesichts" beginnt erst in diesem Größenstadium der Knospe. Vermutlich läßt sich auch beim Gesicht die Farbstoffbildung durch noch höhere Temperaturen mit Erfolg unterdrücken.

V. Gloxinia hybrida grandiflora.

Die Blüten einiger Gloxinienformen haben auf weißem Grund eine feine, rote oder blaue Punktierung. Es wurde versucht, diese Blütenmusterung durch Außeneinflüsse in ihrer Bildung zu unterdrücken bzw. zu ändern. Dazu wurden Pflanzen im blühreifen Alter in Glasthermostaten im Versuchsgewächshaus bei einer Temperatur

von 35—40° C und 100% rel. Luftfeuchtigkeit gehalten. Auch nach 4 wöchiger Einwirkung der hohen Temperatur, welche die Pflanzen verhältnismäßig gut ertrugen, trat keine Blüte mit abgeänderter Musterung auf. Knospen, die bei Versuchsbeginn erst einen Durchmesser von 2 mm hatten (die ausgewachsenen Blütentrichter sind bis 6 cm lang und haben einen größten Durchmesser bis 5 cm) und deren Epidermis noch vollkommen grün, undifferenziert und ungezeichnet war, hatten beim Aufblühen in der hohen Temperatur die gleiche Musterung wie die Kontrollen im normaltemperierten Gewächshaus. Auch die Intensität des Farbstoffes wich nicht wesentlich ab.

Die Temperatur von 35—40° C greift also nicht in den Entwicklungsprozeß der Musterbildung ein. Ebensowenig konnte ein Einfluß des Lichtes auf das Farbmuster festgestellt werden. Auch die Blüten alter, kranker und fast blattloser Pflanzen zeigten ein unverändertes Muster.

Bei der Farbmusterbildung der Gloxinien liegt also sehr wahrscheinlich ein Fall vor, in dem die Musterbildung durch Außenfaktoren nicht beeinflußt werden kann.

B. Beeinflussung von Blütenfärbungen, die während der Anthese auftreten.

Bei *Calceolaria*, *Cheiranthus* und verschiedenen *Viola tricolor*-Sorten sind die das Farbmuster beeinflussenden Außenfaktoren nur in einem sensiblen Knospenstadium wirksam. Im Folgenden sollen Blütenfärbungen behandelt werden, die kein sensibles Knospenstadium besitzen und erst im Laufe der Anthese in Abhängigkeit von Außenfaktoren auf der ganzen Spreite der Blütenblätter in Erscheinung treten.

I. Hibiscus mutabilis.

Die Blüten von *Hibiscus mutabilis*, einem in den Tropen häufigen Malvaceenstrauch, öffnen sich am Morgen rein weiß (KUYPER 1931; SUESSENGUTH 1936). Gegen Mittag färben sich die Blütenblätter leicht rosa; an trüben Tagen soll diese Umfärbung später einsetzen als bei klarem Wetter. Unter immer stärkerer Rötung beginnt die Blüte sich zu schließen, und am Nachmittag ist sie von Anthocyan stark rot gefärbt und vollkommen geschlossen[1]). Die auf Streckungswachstum beruhende Einkrümmung der Blütenblätter wird nicht wieder aus-

1) Dabei wird Flavonol in Anthocyan umgewandelt, wie schon KUYPER (1931) feststellte und auch von mir beobachtet werden konnte.

geglichen, sondern nach einmaligem Schließen verlieren sie ihre Turgeszenz, und die Blüte hat abgeblüht.

Durch die Untersuchung von KUYPER (1931) angeregt, wurde die Abhängigkeit der Umfärbung der *Hibiscus*-Blüte von Außenfaktoren untersucht.

Das Versuchsmaterial bestand aus 20 Pflanzen eines ein- bis zweijährigen Klons. Sie wurden in einem Gewächshaus bei mittlerer Temperatur von 25° C und ca. 60—70% relat. Luftfeuchtigkeit kultiviert. Da nicht nur die abgeschnittene Blüte, sondern auch jedes einzelne abgetrennte Blütenblatt und sogar die Teile eines zerkleinerten Blütenblattes sich unabhängig von der Pflanze in der gleichen Zeit umfärbten und einkrümmten wie die Blüte in ihrer normalen Verbindung mit der Pflanze, konnte auch mit abgetrennten Blütenblättern in der feuchten Kammer gearbeitet werden — eine willkommene Möglichkeit, da das Material nicht sehr reichlich war.

Um die Beteiligung des Lichtes an der Umfärbung der *Hibiscus*-Blüte zu prüfen, wurden die Blätter von frisch geöffneten, noch rein weißen Blüten in konstant temperierte, feuchte Glaskammern gebracht und verschiedensten Intensitäten natürlichen wie künstlichen Lichts zwischen 30000 Lux und völliger Dunkelheit ausgesetzt. — Die Umfärbung vollzog sich unabhängig von der Lichtintensität bei allen so behandelten Blütengeweben gleich schnell. Auch an der Pflanze verfärbten sich weiße, mit schwarzem Papier verdunkelte Blüten mit gleicher Geschwindigkeit wie die nicht verdunkelten.

Die Umfärbung erfolgt also unabhängig vom Licht. Gleiches gilt auch für die Krümmungsvorgänge an den Kronblättern.

Um den Einfluß der Temperatur auf die Umfärbung der *Hibiscus*-Blüte zu prüfen, wurden die Blätter einer weißen, gerade geöffneten Blüte auf verschiedene feuchte Kammern verteilt und diese in Dunkelthermostaten verschiedenen Temperaturen ausgesetzt. Bei 5° C wurde die *Hibiscus*-Blüte selbst bei 10tägigem Aufenthalt nicht rot; das Gewebe starb ab, ohne daß eine Spur von Anthocyan auftrat[1]). Bei 10—15° C war rosa die höchste erreichbare Stufe der Umfärbung. Die optimale Temperatur für die Farbstoffausbildung liegt bei 32—35° C. Hier wurde das Endstadium der Umfärbung schon

1) Bringt man die Blüten rechtzeitig in 18° C zurück, so tritt die Rötung dann noch, wenn auch etwas verlangsamt, ein. Ein Unterschied in der Geschwindigkeit der Umfärbung, wie ihn KUYPER 1931 nach verschieden langem Aufenthalt in 14° C beobachtete, konnte bei entsprechenden Versuchen mit 5° C nicht ermittelt werden.

nach 8 Stunden erreicht. Oberhalb von 35° C verlief der Umfärbungsprozeß dann wieder langsamer, und die Umfärbung ging nur bis rosa, nicht bis rot. Bei 40° C schließlich fand überhaupt keine Umfärbung mehr statt, während die Krümmung der Blütenblätter, die sonst parallel mit der Umfärbung erfolgte, auch bei dieser hohen Temperatur ungehemmt verlief. Dieser Versuch, der häufig wiederholt wurde und sich mit gewissen Ergebnissen KUYPERS (1931) deckt, lieferte stets das gleiche Ergebnis (siehe auch Fig. 8). Damit steht die Steuerung der Umfärbung der Blüte durch die Temperatur fest.

Fig. 8. Hibiscus mutabilis. Die Blüten öffneten sich zur gleichen Zeit. Die linke Blüte wurde um 9^h abgeschnitten und in 15° C gebracht; um 18^h (Zeitpunkt der photographischen Aufnahme) ist sie schwach rosa gefärbt und erst $^1/_4$ geschlossen. Die rechte Blüte wurde ebenfalls um 9^h abgeschnitten und in 25° C gesetzt; sie ist um 18^h vollkommen rot und geschlossen.

KUYPER vermutete die Ursache der beschleunigten Umfärbung der Blüte bei erhöhter Temperatur in der gesteigerten Verdunstung des Blütengewebes. Alle obigen Versuche sind aber in feuchten Kammern in dampfgesättigter Luft durchgeführt worden, so daß bei den Blumenblättern keine nennenswerte Transpiration vorhanden gewesen sein kann. Da trotzdem eine starke Abhängigkeit der Umfärbung des Blütengewebes von der Temperatur festzustellen war, kann die Transpiration des Blütengewebes nicht der eigentlich wirksame Faktor in der Farbstoffbildung sein.

Da durch die Temperaturerhöhung die Atmung stark gesteigert wird, lag es nahe, die Umfärbung in erhöhter Temperatur bei unterdrückter oder doch geschwächter Atmung zu beobachten. In Wasserstoff- und Stickstoffatmosphäre sowie in hoher Kohlensäurekonzentration unterblieb die Umfärbung wie auch die Krümmung der Blütenblätter. Auch Ätherdämpfe wirkten hemmend, und zwar um so stärker, je höher die Konzentration war. Wieder in normale Luft zurückgebracht, trat nach den Begasungen noch eine abgeschwächte Rötung des Blütengewebes ein, vorausgesetzt, daß der Aufenthalt in

den schädlichen Gasen nicht zu lange gedauert hatte. — Die Umfärbung des Blütengewebes scheint demnach also an die Stoffwechseltätigkeit des Gewebes geknüpft zu sein und parallel mit deren Intensität zu verlaufen.

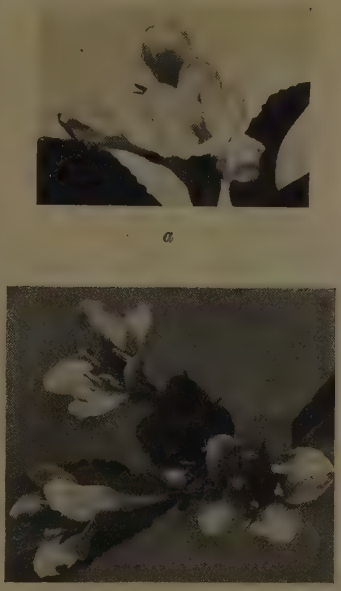
Auch Hitze- und Kälteschäden, die die Knospen vor dem Aufblühen erlitten, wirkten sich in einer Verzögerung, Abschwächung oder vollständigen Unterdrückung der Blütenumfärbung aus. Stets war dann auch die Krümmung der Blütenblätter beeinflußt. Beide Vorgänge von einander zu trennen, gelang durch keine der mannigfach variierten Versuchsanordnungen, sondern Beschleunigung, Verzögerung und Unterdrückung beider Vorgänge infolge der Art der Behandlung waren stets miteinander gekoppelt.

II. Diervilla coraeensis.

Die Blüten von *Diervilla coraeensis*, der Weigelie, öffnen sich gelblich weiß und gehen im Laufe der Anthese allmählich in rot über (Abb. 9). Die Umfärbung erfolgt im Freien bei gutem Wetter in zwei bis drei Tagen; bei schlechtem Wetter geht sie langsamer vor sich. Da in der Regel bei trübem, regnerischem Wetter sowohl Lichtintensität als auch Temperatur erniedrigt sind, wurde der Einfluß dieser beiden Faktoren auf die Geschwindigkeit der Umfärbung untersucht.

Schattierung einzelner Zweige mit weißem Stoff bzw. völlige Verdunklung brachten keine Änderung im Verlauf der Verfärbung. Das Licht ist also nicht die Ursache der Anthocyanbildung.

Zur Prüfung des Temperatureinflusses wurden einzelne Zweige eines Strauches in einen auf 30° C temperierten Glasthermostaten eingeführt; der Strauch selbst stand in einem großen Kübel im Gewächs-



a

b

Fig. 9. Diervilla coraeensis. Oben: Eine weiße, gerade geöffnete Blüte und 3 Knospen. Unten: Der gleiche Zweig 2 Tage später. Die weiße Blüte der obigen Abbildung hat sich inzwischen rot gefärbt, während die drei Knospen zwar geöffnet sind, aber erst schwach mit der Anthocyanausbildung begonnen haben.

haus in mittl. Temperatur von 20° C. Die Umfärbung erfolgte im Glasthermostaten beschleunigt, sie ist also temperaturabhängig. — Da die Umfärbung abgeschnittener Blüten in der gleichen Weise verlief wie die der am Strauch belassenen, wurden die meisten weiteren Versuche wie bei *Hibiscus* mit abgeschnittenen Blüten in der feuchten Kammer gemacht. Die Abhängigkeit der Anthocyanbildung von der Temperatur verlief ähnlich wie bei *Hibiscus*; das Optimum lag zwischen 32 und 35° C. Gegenüber *Hibiscus* ist der langsamere Ablauf des Umfärbungsprozesses bei *Diervilla* hervorzuheben.

III. Lantana hybrida.

Die gleiche augenfällige Umfärbung der Blüte während der Anthese wie *Hibiscus mutabilis* und *Diervilla coraeensis* zeigte *Lantana hybrida*, das Wandelröschen. Die Blüten des Köpfchens blühen gelblich auf und färben sich in 1—2 Tagen rosa bis tiefrot (Fig. 10). Die Umfärbung erwies sich als unabhängig vom Licht und abhängig von der Temperatur. Die optimale Temperatur für die Farbstoffbildung lag bei 32—35° C.

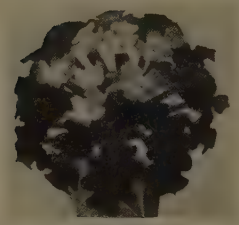


Fig. 10. Lantana hybrida. Die einzelnen Blüten des Blütenköpfchens blühen in zentripetaler Reihenfolge auf. Die inneren, jüngeren Blüten sind noch gelb, während sich die älteren Randblüten schon rot gefärbt haben.

IV. Victoria regia.

Bekanntlich öffnet sich die Blüte von *Victoria regia* am Abend. Sie blüht in der ersten Nacht weiß und schließt sich am anderen Morgen in unverändert weißem Zustande. Im Laufe des Tages bildet sich in den Blättern der geschlossenen Blüte Anthocyan aus. Wenn sich die Blüte gegen Abend zum zweitenmal öffnet, sind die Blütenblätter vollkommen rot. Am nächsten Morgen schließt sich die Blüte wieder und sinkt unter den Wasserspiegel. — Diese Umfärbung der Blütenblätter wurde mit derselben Methode, die bei *Hibiscus*, *Diervilla* und *Lantana* zur Anwendung kam, als unabhängig vom Licht und abhängig von der Temperatur festgestellt. Bei 5° C unterblieb sowohl das Öffnen und Schließen als auch die Umfärbung der Blütenblätter.

V. Erigeron Karwinskyanus.

Erigeron Karwinskyanus blüht mit weißen Randblüten auf. Sobald sich die gelben Scheibenblüten voll geöffnet haben, beginnt unter

normalen Freilandbedingungen eine Anthocyanbildung in den weißen Strahlenblüten, und nach einigen Tagen sind sie rot (Fig. 11).

Bei Pflanzengruppen, die unter einen Sturz aus dichtem Wäschestoff gestellt wurden — die Lichtdurchlässigkeit des Stoffes betrug bei 20000 Lux 30% — trat die Anthocyanbildung in den Randblüten nicht auf. Mit zunehmendem Alter zeigten sie eine schmutzig gelbe Färbung und welkten schließlich. — Die Anthocyanbildung ist hiernach also abhängig vom Licht.

Fig. 11. Erigeron Karwinskyanus. Links eine weiße Blüte; rechts eine ältere, die sich im Freien rot gefärbt hat.

Um die zur Umfärbung der weißen Strahlenblüten notwendige Lichtintensität zu bestimmen, wurde bei künstlichem Licht gearbeitet. Die Versuchspflanzen wurden in verschiedenem Abstand von einer 2000 Wattlampe aufgestellt. Die Wärmestrahlen der Lichtquelle wurden abgefiltert, so daß sich die Lufttemperatur über der beleuchteten Fläche nicht merklich erhöhte; sie betrug während der Versuchsdauer 20 bis 22° C. — Bei 12stündiger täglicher Beleuchtung mit 10000 Lux reichte die Lichtintensität gerade noch aus, um die Anthocyanbildung in den Randblüten zu bewirken. Bei geringerer Lichtintensität erfolgte nur eine schmutzig gelbe Färbung. Wurden die Blüten in diesem Stadium einer Lichtintensität von etwa 20000 Lux ausgesetzt, so färbten sie sich in günstigen Fällen innerhalb 12 Stunden rot. Die voll aufgeblühten weißen Blüten benötigten zu dieser Umfärbung mehrere Tage.

Die Temperatur hatte keinen Einfluß auf die Anthocyanausbildung der Randblüten von *Erigeron Karwinskyanus*.

VI. Viola tricolor „Föhn".

Viola tricolor „Föhn" ist ein Stiefmütterchen, dessen Blüte sich mit blauem „Gesicht" und mattrahmgelbem Umfeld öffnet. Unter natürlichen Freilandbedingungen färbt sich dieses gelbe Umfeld bei sonnigem Wetter in etwa 2 Tagen kräftig hellblau (Fig. 12).

Diese Umfärbung ließ sich schon durch schwache Schattierung unterdrücken. — Tägliche 12stündige Beleuchtung mit künstlichem Licht von 10000—15000 Lux in Höhe der Blüten genügten nicht, um die blaue Färbung hervorzurufen. Die Umfärbung ist also an die Gegenwart ziemlich starken Lichtes gebunden. — Die Temperatur hatte auf die Umfärbung keinen Einfluß.

In den rahmgelben Arealen dieser Stiefmütterchenblüte wurde Flavonol als Anthocyanvorstufe sowohl nach der Reduktionsmethode

von NOACK als auch mit dem KLEINschen Mikrotest festgestellt. Das nach KLEIN behandelte Gewebe zeigte im Polarisationsmikroskop schöne gelbe garbenförmige Kristallaggregate.

Fig. 12. Viola tricolor „Föhn". Links eine frisch aufgeblühte Blüte; die Blüte rechts hat sich im Freien blau gefärbt.

VII. Dianthus barbatus.

Unter Sämlingspflanzen eines unreinen Saatgutes einer Gartenform von *Dianthus barbatus* traten einige Pflanzen auf, deren Blüten weiß aufblühten und sich im Freien im Laufe der Anthese innerhalb von zwei Tagen rot färbten (Fig. 13).

Fig. 13. Blütenstand von Dianthus barbatus mit frisch geöffneten weißen Blüten und älteren rot umgefärbten Blüten.

Diese Umfärbung wird durch das Licht ausgelöst. Schattierung der Blüten bewirkte nämlich eine Hemmung der Anthocyanausbildung, während Verdunklung sie vollkommen unterdrückte. — Nach Entfernung der Verdunklung färbten sich alle weißen Blüten, obgleich sie verschieden alt waren, innerhalb von zwei Tagen gleichmäßig rot.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die vorstehenden Untersuchungen haben ergeben, daß die Anthocyanbildungen, die in Form eines Scheckungsmusters oder als Gesamtfärbung der Blüten auftreten, bei den verschiedenen Versuchsobjekten durch verschiedene Faktoren gefördert oder gehemmt werden. Man kann die Objekte in folgender Weise gruppieren.

1. Die Blütenfärbung ist nicht zu beeinflussen.

Während bei fast allen untersuchten Objekten die Farbe oder das Zeichnungsmuster sich durch Außenfaktoren variieren ließ, versagten alle Versuche bei *Gloxinien*blüten. Auf derartige Resistenz wurde schon gelegentlich gestoßen, z. B. von HARDER und DÖRING (1935) bei einer gesprenkelten *Dahlia*, von MARHEINEKE (1936) bei *Lamium* und von SCHMUCKER (1935) bei *Ophrys*.

2. Die Blütenfärbung ist von der Temperatur abhängig.

a) Blütenmuster, beeinflußbar in einer sensiblen Periode.

Bei den gescheckten Blüten von *Calceolaria* und den *Viola tricolor*-Sorten „Nordlicht", „Alpenglühen"[1]), „Rotkäppchen", „Kardinal" und „Goldlack" wirkte sich der Einfluß der Temperatur innerhalb einer sensiblen Periode im Knospenstadium aus. Außer in einem nicht näher untersuchten Fall bei *Calceolaria* „getuscht" wirkte die Temperatur von 30—35° C hemmend auf die Anthocyanbildung.

Sowohl bei *Calceolaria* wie auch bei *Viola tricolor* „Nordlicht" treten nicht alle Zellen des Scheckungsmusters gleichzeitig in die sensible Periode ein. Bei *Calceolaria* ließ sich jedoch keine klare Gesetzmäßigkeit über den Zeitpunkt des Eintritts der verschiedenen Zonen der Blüte in die sensible Periode feststellen. „Nordlicht" zeigte dagegen eine strenge Gesetzmäßigkeit für die nacheinander erfolgende Sensibilisierung bestimmter Blütenteile. Somit haben die verschiedenen Teile der Zeichnungen eigene sensible Perioden.

In dieselbe Gruppe wie „Nordlicht" und *Calceolaria* gehört offenbar auch *Mimulus tigrinus* (MARHEINEKE 1936). Auch hier wird die Anthocyanbildung im Knospenstadium in einer sensiblen Periode durch hohe

1) Abbildung normal und warm gezogener Blüten bei HARDER, 1938.

Temperatur unterdrückt, auch hier fällt die sensible Periode mit dem Entwicklungsstadium der Knospe zusammen, in welchem sie Anthocyan ausbildet, und die gefärbten Areale treten wie bei *Viola tricolor* „Nordlicht" in einer bestimmten Reihenfolge in die sensible Periode ein, wie aus Abb. 16 der MARHEINEKEschen Arbeit ersichtlich ist: Werden Blüten von *Mimulus*, die bereits einen größeren Teil ihrer sensiblen Periode in der tieferen Temperatur verbracht haben, in die Temperatur von 30° C gesetzt, so zeigt sich beim Aufblühen eine schmale anthocyanfreie Randzone. Sind die Knospen bei Versuchsbeginn weniger entwickelt, so ist dieser helle Rand in der aufbrechenden Blüte verbreitert. Bei noch früher exponierten Knospen schwindet schließlich die Anthocyanbildung bis auf die Rachenzeichnung und einen dunklen Fleck auf der Unterlippe ganz. Diese Anthocyanreste konnten mit der Temperatur von 30° C nicht zum Verschwinden gebracht werden. Die Verhältnisse liegen hier also ähnlich wie bei dem „Gesicht" des Stiefmütterchens, das sich auch als resistent gegen die Temperatur von 30° C erwies. Es gelang allerdings bei eigenen, oben nicht mitgeteilten Versuchen, durch Einwirkung von 35° C auch diese Rachenzeichnung und den Flecken der Unterlippe bei *Mimulus* zum Verschwinden zu bringen: vermutlich wird es aber auch beim Stiefmütterchen gelingen, durch noch stärkere Hitzereize das „Gesicht" zu unterdrücken. — Immerhin ist es von Interesse, daß z. B. bei *Mimulus* die Unterdrückung der Anthocyanausbildung teilweise bei 30° C und teilweise erst bei 35° C möglich ist.

Zwischen der Farbstoffbildung im Muster von *Calceolaria*, *Mimulus tigrinus* und *Viola tricolor* „Nordlicht" bestehen also in gewisser Hinsicht Parallelen.

Manche *Calceolaria*-Sorten zeigten neben der „Tigerung" eine diffuse Anthocyanbildung, die sich über die ganze Fläche der Blüte ausdehnte und die „Tigerung" fast unsichtbar machte. Diese diffuse Anthocyanausbildung wurde ebenfalls durch die Temperatur von 35° C unterdrückt. Die für sie gültige sensible Periode überschnitt teilweise die sensible Periode für die Scheckung. Es war somit möglich, Blüten zu erzeugen, die entweder weder Muster noch diffuse Färbung, oder nur das Muster oder schließlich nur diffuse Färbung zeigten, neben den normalen Blüten, die sowohl Muster als auch eine diffuse Färbung besitzen. Das Zustandekommen dieser Varianten ist davon abhängig, ob man die Blüten während beider sensiblen Perioden bzw. während der ersten oder der zweiten der hohen Temperatur exponiert. Da der

Farbstoff sowohl für das Muster als auch für die diffuse Färbung in den gleichen Zellen der Epidermis gebildet wird, so ist es recht überraschend, daß hier zwei getrennte sensible Perioden vorliegen.

Einige wenige getuschte Calceolarien vergrößerten in der Temperatur von 30° C ihre gefärbten Blütenteile. Sie reagierten also ähnlich wie die Dahliensorte, die HARDER und DÖRING (1935) untersucht haben, bei der auch das Anthocyan durch hohe Temperatur vermehrt wird. Zu der Musterbildung warm kultivierter Petunien (HARDER 1934, 1935, SCHRÖDER 1934, MARHEINEKE 1936) und Calliopsen (MARHEINEKE 1936), die auch eine Ausdehnung ihrer gefärbten Blütenareale bei hoher Temperatur zeigen, sind die Beziehungen dagegen weniger eng, da bei diesen Objekten die Färbung ihren Ausdruck in in einem sehr scharf umrissenen Muster findet.

b) Gleichmäßige Umfärbung der ganzen Kronblätter, beeinflußbar während der Anthese.

Hibiscus mutabilis, *Diervilla coraeensis*, *Lantana hybrida*, *Victoria regia* zeigten im Auftreten des Farbstoffes und seiner Reaktion auf die Temperatur eine weitgehende Ähnlichkeit. Bei allen wurde die Anthocyanbildung in den farblos sich entfaltenden Blüten durch niedrige Temperatur gehemmt; die optimale Temperatur für die Farbstoffbildung lag zwischen 30° C und 35° C. Nur die Geschwindigkeit der Umfärbung war bei den Objekten verschieden, sie ging bei *Hibiscus* in wenigen Stunden, bei den anderen erst in Tagen vor sich.

3. Die Blütenfärbung ist vom Licht abhängig.

Ganz anders als die eben genannten Objekte reagierten Goldlack, *Viola tricolor* „Föhn", *Erigeron Karwinskyanus* und *Dianthus barbatus*. Bei ihnen ist das Licht von ausschlaggebender Bedeutung für die Farbstoffbildung, und zwar derart, daß das Licht die Anthocyanbildung auslöst; war das Licht zu schwach, so unterblieb die Färbung.

Beim Goldlack ließ sich eine sensible Periode nachweisen. Sie beginnt und schließt mit einem etwas früheren Knospenstadium als die Ausbildung des Farbstoffes in der Knospe bei etwa 20° C. Es treten jedoch nicht alle Zellen der Blütenblattepidermis zur gleichen Zeit in die sensible Periode ein, sondern die randlichen Zellen werden zuerst sensibel. Die Bereitschaft zur Aufnahme des Reizes für die

Farbstoffausbildung pflanzt sich dann allmählich bis zur Basis des Kronblattes fort. — Als Vorstufe für Anthocyanbildung konnte Flavonol in den durch Lichtmangel gelb aufblühenden Blüten nachgewiesen werden.

Die Blüten von *Viola tricolor* „Föhn", *Dianthus barbatus* und *Erigeron Karwinskyanus* entwickeln das Anthocyan erst im Laufe der Anthese ungebunden an eine sensible Periode in Abhängigkeit vom Licht. Während beim Goldlack sehr wahrscheinlich eine Beziehung zu der Lichtmenge besteht, die die Knospe während ihrer sensiblen Periode erhält, ist die Umfärbung bei *Dianthus barbatus* und *Erigeron Karwinskyanus* von der Lichtintensität abhängig: Unterhalb einer bestimmten Lichtintensität tritt keine Anthocyanbildung auf. — Die rahmgelben Blüten von *Viola tricolor* „Föhn" führen Flavonol als Anthocyanvorstufe.

Im Verhalten der Pflanzen dieser Gruppe besteht also eine Ähnlichkeit mit dem von *Petunia* (HARDER 1934, SCHRÖDER 1934) insofern, als auch bei *Petunia* die Anthocyanmenge in der Einzelzelle (nicht hingegen des Gesamtmusters!) bei Lichtmangel geringer ist.

4. Die Blütenfärbung ist von der Ernährung abhängig.

Bei allen Untersuchungen über die Abhängigkeit der Musterbildung der Blüten von Außeneinflüssen (HARDER 1934, 1938, SCHRÖDER 1934, HARDER u. DÖRING 1935, HARDER u. MARHEINEKE 1935, MARHEINEKE 1936, SUESSENGUTH 1936, STÖRMER u. v. WITSCH 1937, v. WITSCH 1939) hat man bisher fast ausschließlich Licht und Temperatur als maßgebliche Faktoren feststellen können. Nur bei *Petunia* sind durch HARDER u. v. WITSCH (1940) Veränderungen in der Musterbildung durch Störung der Korrelationen innerhalb des Sprosses als Folge von Behandlung mit Heteroauxin erzeugt worden. Offenbar ganz anders als bei der Masse der bisher untersuchten Objekte liegen die Verhältnisse bei *Tagetes patula*. *Tagetes* hat ein Strahlenmuster ähnlich wie *Petunia* (Abb. bei HARDER, 1938), das aus anthocyanreichen und anthocyanfreien Zonen auf karotinoidhaltigem Grunde besteht, so daß die Streifen dem Auge braun bzw. gelb erscheinen. Wie bei *Petunia* ändert sich die Breite der anthocyanhaltigen und -freien Strahlen bis zum völligen Verschwinden der einen von beiden, so daß die Blüten im äußersten Falle rein braun oder

rein gelb sind; als Bindeglieder zwischen den Extremen treten Strahlenblüten mit verschieden breiten Streifen auf. Schon MARHEINEKE hat sich im hiesigen Institut um die Aufklärung der Abhängigkeit der verschiedenen Mustertypen bei *Tagetes* von den Außenfaktoren bemüht, ohne jedoch zu einem gesicherten Endresultat zu kommen; seine Untersuchungen sind deshalb unveröffentlicht geblieben. Auch ich habe sehr zahlreiche Versuche mit *Tagetes* angestellt, die aber auch noch nicht zu einer völlig befriedigenden Lösung geführt haben. Vor allem fehlen noch hinreichende Mengen von zahlenmäßigen Belegen zur völligen Sicherung der Ergebnisse. Die Versuche sind deshalb im experimentellen Teil dieser Arbeit auch völlig weggelassen. Der Einfluß von Licht und Temperatur auf das Muster ist bei *Tagetes* gering, vor allem scheinen diese beiden Faktoren niemals direkt, sondern nur indirekt durch ihren Einfluß auf die Gesamtpflanze zu wirken. Der Zustand, in dem sich die Pflanze befindet, ist nämlich von sehr großer Wichtigkeit: schlechte vegetative Entwicklung hatte allgemein die Bildung sehr hellgescheckter Blüten zur Folge. So hatten stark schattierte oder entlaubte Pflanzen, Mangelkulturen, vergeilte Pflanzen und solche, die längere Zeit stark geblüht hatten und dadurch wohl geschwächt waren, wie auch alte absterbende Pflanzen durchgehend Blüten, bei denen die anthocyanhaltigen Streifen weitgehend oder gänzlich fehlten. Fast alle diese Pflanzen besaßen hellgrünes, schlecht aussehendes Laub. In kräftigem Wachstum befindliche Pflanzen mit üppigem, dunkelgrünem Laub erzeugten dagegen in der Regel stark dunkelgescheckte bis braune Blüten. Die ersten 4 Blüten junger Pflanzen waren meistens vollkommen einfarbig braun. Ernährungs- und Stoffwechselverhältnisse scheinen also bei *Tagetes* eine große Rolle für die Musterbildung der Blüten zu spielen, eine Annahme, zu der auch MARHEINEKE schon gelangt ist, wie eine nachträgliche Einsicht in die von ihm im Institut hinterlassenen Aufzeichnungen ergab. Im einzelnen zeigt *Tagetes* aber unter Umständen so starke Abweichungen von der Regel (die Unkontrollierbarkeit des physiologischen Zustandes der einzelnen Pflanzenteile dürfte dabei stark mit im Spiele sein), daß erst ein mit größter Sorgfalt aufgenommenes sehr umfangreiches Zahlenmaterial die hier geäußerte Annahme völlig sichern kann.

Zusammenfassung.

1. Bei *Calceolaria hybrida* konnte die Ausbildung des „getigerten" Blütenfarbmusters durch die Temperatur von 30—35° C innerhalb einer sensiblen Periode unterdrückt werden. Das sensible Stadium, das sich zeitlich mit dem Entwicklungsstadium der Knospe, in welchem das Muster ausgebildet wird, deckte, erstreckte sich über die Knospengröße von ca. 4—18 mm. Die verschiedenen Zonen der Blüte traten nicht gleichzeitig in die sensible Periode ein. — Die diffuse Flächenfärbung, die bei einigen *Calceolaria*-Formen zusätzlich zur „Tigerung" vorkommt, ließ sich ebenfalls in einer sensiblen Periode, die die Knospengrößen von 10 bis 30 mm umfaßte, durch 30—35° C vollkommen unterdrücken; auch hier fielen die sensible Periode und der Zeitpunkt der Ausbildung dieser Flächenfärbung zusammen.

2. Bei *Calceolaria hybrida* „getuscht" hemmte die Temperatur von 35° C in einer sensiblen Periode, die sich über die Knospengrößen von ca. 4—20 mm erstreckte, die Ausbildung des Tuschflecks. Alle Zellen des „Tuschflecks" traten gleichzeitig in den sensiblen Zustand ein. Letzterer fiel zusammen mit dem Knospenentwicklungsstadium, in welchem der „Tuschfleck" ausgefärbt wird.

3. Die Anthocyanbildung der Blüten von *Cheiranthus Cheiri* wurde in einer sensiblen Periode, die bei der Knospengröße von 8 bzw. 10 mm bis 12 bzw. 16 mm liegt, durch Lichtmangel verhindert; dabei war nicht die Lichtintensität, sondern die Gesamtlichtmenge, welche eine Knospe innerhalb ihrer sensiblen Periode erhält, für die Anthocyanbildung wirksam.

4. Die Anthocyanbildung im Umfeld bei *Viola tricolor* „Nordlicht" wurde durch die Temperatur von 30° C in einer sensiblen Periode bei ca. 4—13 mm Knospengröße unterdrückt. Die einzelnen Teile der Zeichnung traten nach einer bestimmten Regel in die sensible Periode ein. Die sensible Periode fiel zusammen mit dem Stadium der Knospe, in welchem die Differenzierung des Musters erfolgt. — Das „Gesicht" konnte nicht wesentlich durch die Temperatur von 30° C beeinflußt werden.

5. Bei *Gloxinia hybrida grandiflora* konnte das Blütenmuster weder durch die Temperatur von 35—40° C, noch durch Lichtentzug oder durch andere Außenfaktoren beeinflußt werden.

6. Bei *Tagetes patula* traten Änderungen in dem aus gelben und braunen Streifen bestehenden Muster auf, die höchstwahrscheinlich auf Ernährungseinflüsse zurückgeführt werden müssen.

7. Die bei *Hibiscus mutabilis*, *Diervilla coraeensis*, *Victoria regia* und *Lantana hybrida* im Laufe der Anthese auf der ganzen Fläche der anthocyanfrei sich öffnenden Blüten eintretende Rötung wird durch die Temperatur gesteuert. Die optimale Temperatur für die Farbstoffausbildung lag bei 32° bis 35° C. Sauerstoffentzug und Narkose bewirkten bei *Hibiscus* je nach Dosis Verlangsamung oder völlige Unterdrückung der Rötung.

8. Bei den sich ebenfalls weiß öffnenden Blüten von *Erigeron Karwinskyanus*, *Viola tricolor* „Föhn" und *Dianthus barbatus* war die im Laufe der Anthese sich einstellende Anthocyanbildung an die Gegenwart von Licht oberhalb einer bestimmten Intensität gebunden.

Herrn Prof. Dr. R. Harder danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, für die Hinweise bei der Wahl der Versuchsobjekte und für stete Kritik bei den Untersuchungen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für die Bereitstellung von Hilfsmitteln zu Dank verpflichtet.

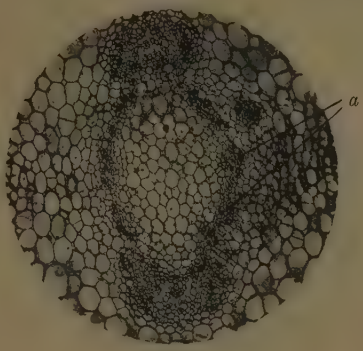
Literaturverzeichnis.

Harder, R., Über die Musterbildung an Petunienblüten. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen. Math. phys. Kl. Fachgr. VI. Biol., N. F. **1**, Nr. 2 (1934). — Ders., Über Farb- und Musteränderungen bei Blüten. Naturwiss. **26**, 713 (1938). — Ders. u. Döring, B., Über die Farbänderung der Blüten von Dahlia variabilis. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen. Math. phys. Kl. Fachgr. VI. Biol., N. F. **2**, Nr. 4 (1935). — Ders. u. Marheineke, J., Weitere Untersuchungen über die Musterbildung an Petunienblüten. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen. Math. phys. Kl. Fachgr. VI. Biol., N. F. **2**, Nr. 5 (1935). — Ders. u. v. Witsch, H., Blütenscheckung und Korrelationsstörungen. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen. Math. phys. Kl. Fachgr. VI. Biol. N. F. **3**, Nr. 14 (1940). — Goebel, K., Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Jena 1908. — Kuyper, J., Über den Farbwechsel und die Ephemerie bei den Blüten von Hibiscus mutabilis. Rec. trav. bot. néerl. **28**, 1 (1931). — Marheineke, J., Über den Einfluß von Außenfaktoren auf das Blütenfarbmuster von Petunia hybrida grandiflora, Calliopsis bicolor, Mimulus tigrinus und Primula malacoides.

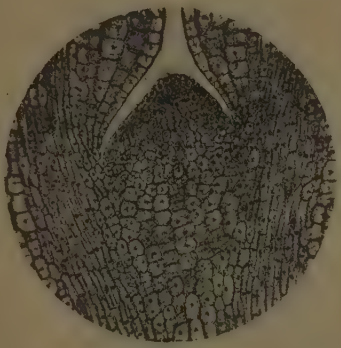
Jb. wiss. Bot. **83,** 4 (1936). — Noack, K., Untersuchungen über den Anthocyanstoffwechsel auf Grund der chemischen Eigenschaften der Anthocyangruppe. Z. f. Bot. **10,** 561 (1918). — Ders., Physiologische Untersuchungen an Flavonolen und an Anthocyanen. Z. f. Bot. **14,** 1 (1922). — Schmucker, Th., Über eine Ophrys-Population aus Kreta. Beih. Bot. Centralbl. **53**/A, 427 (1935). — Schröder, H., Untersuchungen über die Beeinflussung des Blütenfarbmusters von Petunia hybrida grandiflora hort. Jb. wiss. Bot. **79,** 714 (1934). — Störmer, I. u. v. Witsch, H., Chemische und entwicklungsphysiologisch-genetische Untersuchungen über das Blütenfarbmuster der Gartenpetunia. Planta. **27,** 1 (1937). — Suessenguth, K., Über den Farbwechsel von Blüten. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **54,** 409 (1936). — v. Witsch, H., Weitere Untersuchungen zur genetischen Grundlage der Blütenscheckung bei Petunia hybr. grandiflora. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen. Math. phys. Kl. Fachgr. VI. Biol., N. F. **3,** Nr. 12 (1939).

Druck von Ant. Kämpfe, Jena

1

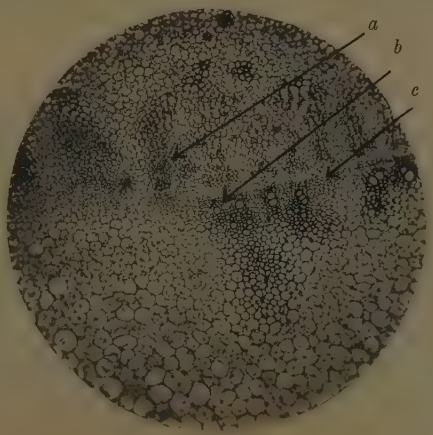


2



3

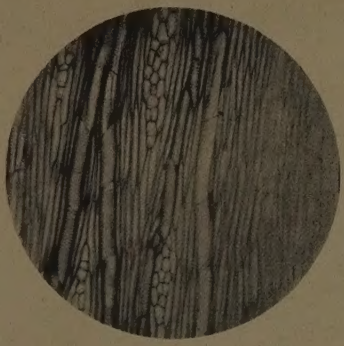
4



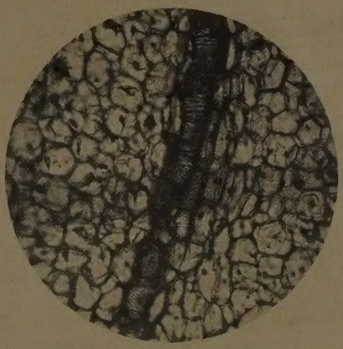
5

Orsós.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

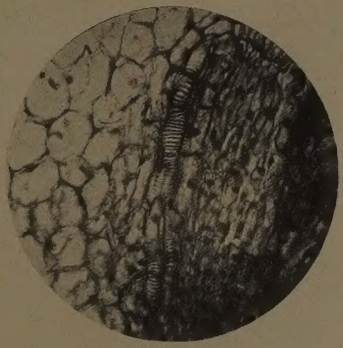


6

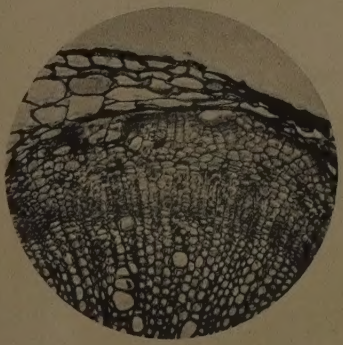


7

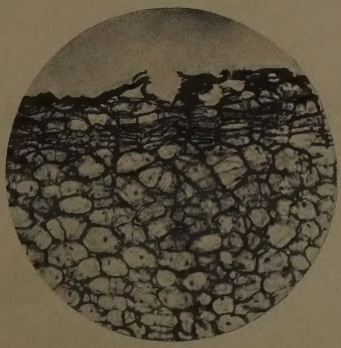
8



9



10



11

Orsós.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

Die vegetative Vermehrung der Pflanzen

Von

Martin Möbius

emerit. Professor der Botanik, Frankfurt a. M.

Mit 10 Abbildungen im Text

V, 82 S. gr. 8° 1940 RM 4.50

Inhalt: **1. Definition der vegetativen Vermehrung.** / **2. Formen der vegetativen Vermehrung:** Zellteilung der Einzelligen und Zerfall der Zellfäden. Leber- und Laubmoose. Gefäßkryptogamen (Prothallium, Sporophyt). Einfache Zellteilung in der Natur (Ableger oder Stecklinge, Absenker). Vermehrung durch Rhizome und oberirdische Ausläufer. Adventivsprosse (aus Wurzeln, aus Blättern). Brutknospen (an Blättern, statt Blüten, vivipare Pflanzen). Beiknospen. Adventiv-Embryonen. Brutknospen und Knollen an Stammorganen. / **3. Verbreitungsmittel für die Organe der vegetativen Vermehrung.** / **4. Verhältnis der vegetativen Vermehrung zur anderen Fortpflanzungsweise.**

Vor 42 Jahren erschienen des Verfassers „Beiträge zur Fortpflanzung der Gewächse". Seit dieser Zeit ist der Gegenstand immer wieder von Möbius bearbeitet und auch in Spezialvorlesungen behandelt worden. Die vegetative Vermehrung, wie Möbius sie versteht und wie es der Name besagt, ist in der Literatur sehr wenig und nicht zusammenhängend behandelt worden. Diesem Mangel soll mit der vorliegenden Veröffentlichung abgeholfen werden. Es wird eine Übersicht über die verschiedenen Typen gegeben. Bei den Abbildungen hat der Verfasser sich auf das beschränkt, was ihm am wichtigsten erschien, um das nicht noch einmal zu bringen, was in den Handbüchern schon zu finden ist oder was er selbst an anderen Stellen veröffentlicht hat.

Von demselben Verfasser erschien früher:

Beiträge zur Lehre von der Fortpflanzung der Gewächse.

Mit 36 Abbildungen im Text. VIII, 212 S. gr. 8° 1897 RM 4.50*

Inhalt: 1. Einleitung. 2. Über die Folgen von beständiger vegetativer Vermehrung der Pflanzen. 3. Über die Umstände, von denen das Blühen der Pflanzen abhängt. 4. Über das Verhältnis zwischen Keim- und Knospenbildung bei der Fortpflanzung der Gewächse. 5. Über Entstehung und Bedeutung der geschlechtlichen Fortpflanzung im Pflanzenreiche. / Register.

Geschichte der Botanik. Von den ersten Anfängen bis zur Gegenwart.

VII, 458 S. gr. 8° 1937 RM 18.—, geb. 20.—

Berichte über d. ges. Biologie. A, Bd. 45 (1937), 1/2: . . . Der weitaus größte Teil des Textes ist in kleine Kapitel von wenigen Seiten untergeteilt, von denen jedes ein bestimmtes Sachgebiet schlicht und ausgezeichnet lesbar darstellt (z. B. Längen- und Dickenwachstum, Nastien). Einzelne Kapitel behandeln etwas umfassendere Gebiete (z. B. Stoffwechsel), meist die ältere Entwicklung vor der Zeit weitgehender Spezialisierung . . .

Auch weniger Eingeweihte können die Darlegungen mit vollem Verständnis leicht lesen und einen begründeten Begriff von Gang und Stand der Forschung erhalten. Deshalb eignet sich das Buch auch recht gut für Leser, die nicht allein aus historischem Interesse danach greifen, sondern im Besitz der Grundkenntnisse ihr fachliches Wissen vermehren wollen. Wer sich aber gerade über die Entwicklung eines Problems, besonders die ältere, unterrichten oder rasch dergleichen nachschlagen will, der findet hier endlich schnelle Möglichkeit dazu. In dankenswerter Weise kommt auch die angewandte Botanik zu ihrem Recht. Besonders erfreulich und erwünscht sind die Abschnitte, die sich mit den Hilfsmitteln der Forschung und dem Unterricht befassen. Schmucker, Göttingen

Einfache Untersuchungen von Boden und Wasser

mit Ausblicken auf die Boden- und Gewässerkunde

Von

Richard Kolkwitz und **Fritz Tödt**

Dr. phil., Dr. med. h. c., ao. Prof. der Botanik a. d. Universität Berlin, Abteilungsdirektor i. R. an der Landesanstalt für Wasser, Boden- und Lufthygiene

Dr. Ing. habil., Dozent an der landwirtschaftl. Fakultät der Universität Berlin, Abteilungsvorsteher der elektrochem. Abteilung am Institut für Zuckerindustrie in Berlin

Mit 29 Abbildungen im Text, 2 farbigen Tafeln und Geleitwort der Staatl. Hauptstelle für den naturwissenschaftl. Unterricht Berlin

VIII, 134 S. gr. 8° 1941 RM 4.—, geb. 5.20

Inhalt: Einleitung. / Chemischer Teil (von F. Tödt). / I. **Einfache Messung des pH-Wertes** (Kalkbedarfs im Boden) sowie des Phosphat-, Stickstoff-, Eisen- und Kalkgehaltes: 1. Allgemeines über den pH-Wert. 2. Die praktische Ausführung der kolorimetrischen pH-Messung im Boden. 3. Ergänzung der pH-Messung im Boden. 4. Die Grundlagen der übrigen Methoden, insbesondere der Phosphatmessung im Boden. 5. Vorschrift zur Messung des Phosphat-, Stickstoff-, Eisen- und Kalkgehaltes. 6. Beispiele aus dem augenblicklichen Stande der Meßtechnik im Hinblick auf die Messung vom Phosphat und Kali im Boden sowie Sauerstoff im Wasser. 7. Beschreibung eines einfachen, für sämtliche Messungen brauchbaren Untersuchungsgerätes. / II. **Physik des Bodens:** Teilchengröße. Verwitterung. Geologischer Ursprung des Bodens. Fruchtbare Bodenstruktur. Einfluß von Kalk und Humus auf die Bodenstruktur. Wasserführung des Bodens. Bodenkolloide. / III. **Chemie des Bodens (und Wasser):** 1. Chemischer Umsatz als Grundlage des pflanzlichen und tierischen Lebens. 2. Der Eingriff des Menschen in das natürliche Gleichgewicht der Pflanzenernährung. 3. Nährstoffvorrat im Boden. 4. Kalkgehalt im Wasser. 5. Kali-, Nitrat- und Phosphatdüngung. 6. Beziehung zwischen Düngung und Ernte. / IV. **Bodenuntersuchung und Bodenertrag:** 1. Die Entnahme von Bodenproben. 2. Die Bestimmung von Kali und Phosphat im Boden. 3. Die Übertragung von Untersuchungsergebnissen auf die praktische Landwirtschaft. 4. Überblick über bisher in Deutschland ausgeführte Bestimmungen des pH-Wertes bzw. Kalkbedarfs im Boden. 5. Weitere Ergebnisse auf Grund langjähriger Untersuchungen. 6. Besondere Schwierigkeiten bei der Auswertung von Bodenuntersuchungen. / Biologischer Teil (von R. Kolkwitz). I. Allgemeines. II. Methodisches. III. **Biologie der einzelnen Gruppen:** 1. Bakterien und Hefen. 2. Niedere und höhere Pilze. 3. Algen. 4. Flechten. 5. Moose. 6. Farnpflanzen. 7. Nadelhölzer, Kiefer, Fichte. 8. Blütenpflanzen: Vegetation auf Böden in Gebirgslage und in der Ebene. Landwirtschaft im kleinen. Frage, ob Landwirtschaft oder Obstbau, Wiesenbau oder Fischzucht. Kleingärten und Siedlerland. Kartoffel. Zuckerrübe. Melde. Silbergras. Rohr, Teichbinse und Laichkraut. Buche. 9. Biologischer Überblick. / Literatur. Register.

Dem Buch liegt der Gedanke zugrunde, daß es dringend erwünscht sei, das allgemeine Interesse für die große Bedeutung der Pflanzenkultur, sowie die Kenntnis vom Boden, und soweit nötig, vom Wasser zu beleben.

Die Verfasser haben sich bemüht, einfache Zusammenhänge und Untersuchungsmethoden abgerundet darzustellen und das Beschriebene nach Möglichkeit durch leicht gelingende Versuche zu beleben. Das zu bearbeitende Gebiet ist schwierig; es konnte sich deshalb nur darum handeln, die chemischen, physikalischen und biologischen Darlegungen so zu behandeln, daß der Blick mehr als bisher auch im naturwissenschaftlichen Unterricht auf dieses Fach gelenkt wird, das es wegen seiner anregenden Fragestellungen und wegen seiner glänzenden Entwicklung ganz besonders verdient.

Auch Wasser und Schlamm sind in den Kreis der Betrachtungen einbezogen, weil die Methoden auf diese Gebiete passen; sie betreffen Fischerei und Hygiene. Ein weiteres wesentliches Ziel der Arbeit liegt darin, daß die Beschäftigung mit dem an sich sehr schwierigem Bodenproblem weiteren interessierten Kreisen, wie z. B. den Siedlern, zugänglich gemacht wird.